

Transcript® Uni All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal)

耐高温全预混第一链cDNA合成试剂盒(一步法去除gDNA) (用于qPCR)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AU341

版本号: Version 3.0

保存: -18°C及其以下温度下保存两年。

产品说明

Transcript® Uni All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal) 包含反转录反应所需的全部成分(Transcript® Uni RT, RNase Inhibitor, Anchored Oligo(dT)₂₀ Primer, Random Primer(N9), dNTPs, Buffer), 可在同一管反应中实现cDNA合成和去除基因组DNA。反应时, 只需加入5×All-in-One Reaction Mix for qPCR、Transcript® Uni All-in-One Enzyme Mix、模板RNA和水, 在42°C-65°C条件下即可高效地合成第一链cDNA, 同时去除RNA模板中残留的基因组DNA。另配有20×No RT Control Mix, 用于配制无反转录酶的对照, 判断qPCR模板是否来自cDNA。该产品操作简便, 降低操作过程中的污染机率。**cDNA产物只适用于qPCR, 不适用于常规PCR。**

特点

- 高热稳定性: 反应温度42°C-65°C。
- All SuperMix型: 只需加入5×All-in-One Reaction Mix for qPCR、Transcript® Uni All-in-One Enzyme Mix、模板RNA和水, 一管反应实现cDNA合成和去除基因组DNA同时进行。
- 最佳Oligo(dT)₂₀ Primer 和Random Primer(N9) 配比, 及优化的试剂成分组成, 确保对不同浓度的RNA有相同的反转录效率, **短链cDNA合成效率高。**
- 反转录仅需5分钟。
- 与qPCR试剂的高兼容性。

适用范围

高拷贝、低拷贝基因检测。

试剂盒组成

Component	AU341-02 (100 rxns)
5×All-in-One Reaction Mix for qPCR	400 µl
Transcript® Uni All-in-One Enzyme Mix	100 µl
20×No RT Control Mix	40 µl
RNase-free Water	2×1 ml

使用前, 请将各组分点甩离心。

第一链cDNA合成和gDNA去除

1、反转录反应体系与No RT Control 反应体系(可选)

Component	Volume (RT Reaction)	Volume (No RT Control)
Total RNA/mRNA	≤1 µg/ ≤100 ng	≤1 µg/ ≤100 ng
5×All-in-One Reaction Mix for qPCR	4 µl	4 µl
Transcript® Uni All-in-One Enzyme Mix	1 µl	-
20×No RT Control Mix	-	1 µl
RNase-free Water	Variable	Variable
Total volume	20 µl	20 µl



- 2、轻轻混匀，50℃孵育5分钟。对于GC含量高或具有复杂二级结构的RNA模板，可适当升高反应温度 (≤65℃)。
- 3、85℃加热2分钟失活。

推荐qPCR体系与条件 (以20 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
2×PerfectStart® Green qPCR SuperMix	10 μl	1×
Universal Passive Reference Dye (50×) (optional)	0.4 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μl	-

qPCR (三步法)

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
50-60℃ 15 sec ★
72℃ 10 sec ★

40-45 cycles

Dissociation stage

qPCR (两步法)

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
60℃ 30 sec ★

40-45 cycles

Dissociation stage

对于ABI仪器，荧光信号采集步骤（三步法中可以是退火或是延伸步骤）的时间如下

- ★使用ABI Prism7700/7900时，采集时间设定为30秒；
- ★使用ABI Prism7000/7300时，采集时间设定为31秒；
- ★使用ABI Prism7500时，采集时间设定为34秒；
- ★使用ABI ViiA 7时，采集时间设定为至少19 秒。

高扩增效率选择三步法。高特异性选择两步法。

Universal Passive Reference Dye适用机型

- Universal Passive Reference Dye (50×)

ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast, ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000

- No Passive Reference Dye

Roche LightCycler 480, Roche Light Cycler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000, Mastercycler ep realplex

注意事项

- 对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议将RNA模板与RNase-free Water混匀，65℃孵育5分钟后，冰浴2分钟，然后再加入其它反应组分。
- 避免RNase污染。
- 为了保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V3.0-202401

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

