

TransScript® Uni Cells to CT 1-Step Probe kit 探针一步法细胞直接扩增试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AC321

版本号: Version 1.0

保存: -18℃及其以下温度下保存两年。

产品说明

本产品利用独特的裂解液裂解细胞，裂解物无需纯化，直接在同一反应体系中，去除RNA模板中的基因组DNA的同时完成细胞RNA的表达分析。

特点

- 操作简单：5分钟即可获得裂解产物，裂解物无需纯化可直接用于表达分析；搭配高灵敏度、同时去除基因组DNA、高特异性、兼容多重一步法的qRT-PCR试剂，全流程操作简洁。
- 细胞投入量范围广：本产品在10~10⁶个细胞的投入量下稳定扩增。
- 抗抑制能力强：qRT体系可兼容6-8μl 裂解产物的加入量。

试剂盒组成

Component	AC321-01 (100 rxns)
C to C Lysis Buffer	5×1 ml
5×TransScript® II Multiplex Probe One-Step qRT-PCR SuperMix UDG(ROX)	2×1 ml
RNase-free Water	5 ml

操作步骤

细胞裂解

a、48孔、96孔或384孔板贴壁细胞

不同孔板的Buffer用量

细胞培养板	PBS用量	C to C Lysis Buffer 用量
384-well	25 μl	12.5 μl
96-well	100 μl	50 μl
48-well	250 μl	100 μl

以下步骤以96孔板贴壁细胞为例

- 1、向96孔板中接种一定数量的细胞并培养。
- 2、用移液器尽量吸尽培养基。
- 3、向各孔中加入100 μl预冷的PBS，用移液器尽量吸尽PBS。
- 4、向各孔中加入50 μl C to C Lysis Buffer，移液器轻吸打5-10次混匀，室温 (22-25℃左右) 放置5分钟。

b、其它容器培养的细胞

- 1、对于贴壁细胞，按照细胞传代的操作，将细胞消化成单个细胞；对于悬浮细胞，直接从步骤2开始。
- 2、计数细胞，2-8℃，500×g离心5分钟，弃上清。
- 3、用1 ml预冷的PBS重悬细胞，2-8℃，500×g离心5分钟，小心弃上清。
- 4、用适量预冷的PBS重悬细胞，使细胞密度为2-2×10⁵个/μl。
- 5、取5 μl 重悬后的细胞 (10-10⁶个细胞/5 μl) 到离心管中，加入对应体积的C to C Lysis Buffer (见下表)，移液器轻吹打5-10次混匀，室温 (22-25℃左右) 放置5分钟。



不同细胞数量对应C to C Lysis Buffer用量

细胞个数	C to C Lysis Buffer
10^5 - 10^6 个	200 μ l
10^3 - 10^5 个	50 μ l
10 - 10^3 个	25 μ l

制备好的裂解产物，可直接进行下游的qRT反应；若暂时不用，可于-80℃保存1个月。

推荐qRT PCR体系与条件 (以20 μ l反应体系为例)

Component	Volume (RT Reaction)	Volume (No RT Control)(可选)
Cell Lysate	6 μ l	6 μ l
5× <i>TransScript</i> [®] II Multiplex Probe One-Step qRT-PCR SuperMix UDG(ROX)	4 μ l	-
Primer-Probe Mix	Variable	Variable
5×No RT SuperMix UDG(ROX)	-	4 μ l
RNase-free Water	Variable	Variable
Total volume	20 μ l	20 μ l

标准程序

50℃ 5 min
94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
60℃ 30 sec ★ } 40-45 cycles

对于ABI仪器，荧光信号采集步骤 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。

注意事项

- 建议根据推荐细胞投入量进行实验，细胞投入量过多可能会抑制后续反应。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202506

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

