

TransScript® Uni One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix

TransScript Uni一步法去除gDNA及第一链cDNA合成试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AU311

保存: -18℃及其以下温度下保存两年。

产品说明

TransScript® Uni RT 由基因改造筛选得到, 具有宽广的反应温度 (42℃-65℃) 和超高的热稳定性。本产品以RNA为模板, 在同一反应体系中, 合成第一链cDNA的同时去除RNA模板中残留的基因组DNA。反应结束后, 只需在85℃加热5秒钟, 即可同时失活TransScript® Uni RT/RI与gDNA Remover。该酶最佳反应温度50℃。

特点

- 超高热稳定性: 反应温度42℃-65℃。
- 在同一反应体系中, 同时完成反转录与基因组DNA的去除, 操作简便, 降低污染机率。
- 产物用于qPCR: 反转录15分钟; 产物用于PCR: 反转录30分钟。
- 反应结束后, 同时热失活RT/RI与gDNA Remover。与传统用DNase I预处理RNA的方法相比, 避免了处理后热失活DNase I对RNA的损伤。
- 合成片段≤20 kb。

适用范围

- 高拷贝、低拷贝基因检测。
- 高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板。
- cDNA文库构建, 引物延伸, 3'和5'RACE。

试剂盒组成

Component	AU311-02 (50 rxns)	AU311-03 (100 rxns)
TransScript® Uni RT/RI Enzyme Mix	50 µl	100 µl
gDNA Remover	50 µl	100 µl
2×TS Uni Reaction Mix	500 µl	1 ml
Random Primer(N9) (0.1 µg/µl)	50 µl	100 µl
Anchored Oligo(dT) ₂₀ Primer (0.5 µg/µl)	50 µl	100 µl
RNase-free Water	500 µl	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、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	0.1 ng-5 µg/10 pg-500 ng
Anchored Oligo(dT) ₂₀ Primer (0.5 µg/µl)	1 µl
or Random Primer (0.1 µg/µl)	1 µl
or GSP	2 pmol
2×TS Uni Reaction Mix	10 µl
TransScript® Uni RT/RI Enzyme Mix	1 µl
gDNA Remover	1 µl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 µl



2、轻轻混匀

- 如用Anchored Oligo(dT)₂₀或基因特异引物(GSP)，产物用于qPCR：50℃孵育15分钟；产物用于PCR：50℃孵育30分钟。
- 如用Random Primer(N9)，25℃孵育10分钟后，产物用于qPCR：50℃孵育15分钟；产物用于PCR：50℃孵育30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5秒钟失活TransScript® Uni RT/RI与gDNA Remover。

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×TransStart® Top/Tip Green qPCR SuperMix	10 μl	1×
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

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。

qPCR (两步法)

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
60℃ 30 sec ★

40-45 cycles

Dissociation Stage

推荐PCR体系与条件 (以50 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)	1 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	1 μl	0.2 μM
2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II	25 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 μl	-

PCR

94℃ 2-5 min
94℃ 30 sec
50-60℃ 30 sec
72℃ 1-2 kb/min
72℃ 5-10 min

35-40 cycles

注意事项

- 避免RNase污染。
- 为了保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。
- 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、引物与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。
- 一步混匀所有的反应组分可以成功完成大多数反转录反应。对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议按照说明书增加模板与引物的热孵育步骤。
- 产物用于qPCR时，对于某些特殊基因，为获得更好扩增效果，可适当延长50℃孵育时间为30分钟。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

