

# Transcript® Two-Step RT-PCR SuperMix

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AT401

保存: -20°C保存两年。

## 产品说明

Transcript® Two-Step RT-PCR SuperMix是具有高效合成效率和高扩增效率的两步法RT-PCR试剂盒。反转录用5×Transcript® All-in-One SuperMix for PCR高效地将RNA合成第一链cDNA；PCR用2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II扩增。本试剂盒含有从RNA到cDNA，以及PCR此cDNA的全部试剂。

## 特点

- 用5×Transcript® All-in-One SuperMix for PCR高效地将RNA合成第一链cDNA，操作简便，降低操作过程中污染机率。
- 2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II 适用于cDNA扩增，具有高保真、高特异性、高扩增效率的特点。
- 扩增产物3'端带“A”碱基，可直接克隆于pEASY®-T系列载体中。
- 扩增片段≤12 kb。

## 适用范围

- 高拷贝、低拷贝基因检测。

## 试剂盒组成

Component	AT401-01
5×Transcript® All-in-One SuperMix for PCR	200 µl
2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II	2×1 ml
RNase-free Water	1 ml

使用前，请将各组分量甩离心。

## 第一链cDNA合成

1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	0.1 ng-5 µg/10 pg-500 ng
5×Transcript® All-in-One SuperMix for PCR	4 µl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 µl

2、轻轻混匀

- 如RNA模板含有Poly(A)<sup>+</sup>结构，42°C孵育30分钟。
- 如RNA模板不含Poly(A)<sup>+</sup>结构，25°C孵育10分钟，42°C孵育30分钟。

3、85°C加热5秒钟失活Transcript® RT/RI。

推荐PCR体系与条件 (以50 µl反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
cDNA	2 µl	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°C	2-5 min	} 35-40 cycles
94°C	30 sec	
50-60°C	30 sec	
72°C	1-2 kb/min	
72°C	5-10 min	

### 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，需要首先将RNA模板与RNase-free Water混匀，65°C孵育5分钟后冰上静置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。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 [complaints@transgen.com.cn](mailto:complaints@transgen.com.cn)

