

TransScript® II Green Two-Step qRT-PCR SuperMix

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AQ301

保存: -20°C避光保存两年。

产品说明

TransScript® II Green Two-Step qRT-PCR SuperMix是具有高效合成效率和高扩增效率的两步法荧光定量PCR试剂盒。在同一反应体系中,用5×TransScript® II All-in-One SuperMix for qPCR和gDNA Remover在42°C-55°C条件下,高效地将RNA合成第一链cDNA,同时去除基因组DNA;另配有5×TransScript® II All-in-One No-RT Control SuperMix for qPCR,用于配制无反转录酶的对照,判断qPCR模板是否来自cDNA。qPCR使用PerfectStart® Green qPCR SuperMix扩增。

特点

- 用5×TransScript® II All-in-One SuperMix for qPCR和gDNA Remover 高效地将RNA合成第一链cDNA。同时去除基因组DNA。操作简便,降低操作过程中的污染机率。
- 用PerfectStart® Green qPCR SuperMix扩增,扩增效率强,特异性高,灵敏度好,数据准确。
- 配有适用于不同机型的Passive Reference Dye (调整PCR加样误差引起的管间差异),数据准确。

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。

产品组成

Component	AQ301-01
5 × TransScript® II All-in-One SuperMix for qPCR	200 µl
5 × TransScript® II All-in-One No-RT Control SuperMix for qPCR	20 µl
gDNA Remover	50 µl
2 × PerfectStart® Green qPCR SuperMix	3 × 1 ml
Passive Reference Dye (50×)	120 µl
RNase-free Water	1 ml

第一链cDNA合成和gDNA去除

1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	≤1 µg/ ≤100 ng
5 × TransScript® II All-in-One SuperMix for qPCR	4 µl
gDNA Remover	1 µl
RNase-free Water	to 20 µl

2、轻轻混匀,50°C孵育15分钟。

对于高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板,可以选择55°C孵育15分钟。

3、85°C加热5秒钟失活TransScript® II RT/RI和gDNA Remover。



推荐qPCR体系与条件 (以20 μ l 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
2 \times PerfectStart [®] Green qPCR SuperMix	10 μ l	1 \times
Passive Reference Dye (50 \times) (optional)	0.4 μ l	1 \times
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μ l	-

qPCR (三步法)

94 $^{\circ}$ C 30 sec
 94 $^{\circ}$ C 5 sec
 50-60 $^{\circ}$ C 15 sec ★
 72 $^{\circ}$ C 10 sec ★

40-45 cycles

Dissociation Stage

qPCR (两步法)

94 $^{\circ}$ C 30 sec
 94 $^{\circ}$ C 5 sec
 60 $^{\circ}$ C 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。

Passive Reference Dye适用机型

- Passive Reference Dye I (50 \times)
 ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast
- Passive Reference Dye II (50 \times)
 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 $^{\circ}$ C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: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

