

产品简介

Quantscript RT Kit (cDNA第一链合成试剂盒)是专为两步法RT-PCR第一步实验配制的,具有高灵敏度的RT-PCR反应系统,可以从极低量的总RNA或poly(A)⁺ RNA合成第一链cDNA。该试剂盒中使用的逆转录酶Quant Reverse Transcriptase与通常使用的Moloney鼠白血病病毒来源的MMLV和鸟成髓细胞病毒来源的AMV不同,是一种使用大肠杆菌工程菌进行重组表达的全新高效逆转录酶。该酶能够高效转录多种RNA模板,最大限度将RNA转录成cDNA第一链。

产品特点

合理配备了与cDNA第一链合成反应相关的各种组分,该试剂盒中的Quant Reverse Transcriptase具有高效的逆转录酶活性,能通读GC含量高,二级结构复杂的RNA模板,对后续的PCR或定量PCR实验兼容性好,适合于各种PCR耐热聚合酶。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 用于cDNA合成反应的溶液试剂尽可能用DEPC进行处理,并在高压灭菌后使用。有些试剂不能高压灭菌时,首先用经过灭菌的器具、水等配制溶液后,再将溶液进行过滤除菌处理。
2. RNA样品要避免基因组DNA污染。
3. 避免多次反复冻融RNA。
4. 试剂盒的各组成成分应在-20℃保存。
5. cDNA产物应置于-20℃保存。

操作步骤

下列操作步骤适用于模板量为50 ng-2 μg的总RNA,如果总RNA量大于2 μg,请按比例扩大反应体系。

1. 将模板RNA在冰上解冻;引物、10×RT mix (其中包含RNasin和DTT)、Super pure dNTP混合液、RNase-Free ddH₂O在室温(15-25℃)解冻,解冻后迅速置于冰上。使用前将每种溶液涡旋振荡混匀,简短离心以收集残留在管壁的液体。
2. 按照表1的逆转录体系配制混合液,彻底混匀,涡旋振荡时间不超过5 min。简短离心,并置于冰上, RNA模板请于第4步加入。
注意: 如果下游进行荧光定量PCR实验,建议使用10 μl逆转录反应体系,各反应组分相应减半。从而可以与RealMaster Mix (FP202&FP203)、SuperReal PreMix (FP204&FP206)、SuperReal PreMix Plus (FP205)以及FastFire qPCR PreMix (FP207&FP208)的反应次数匹配。
3. 如果要多个逆转录反应,可以将配制好的混合液后分装在单个反应管中,置于冰上。
4. 将模板RNA(50 ng-2 μg)加入到混合液中,彻底混匀,涡旋振荡时间不超过5 sec,简短离心以收集管壁残留的液体。
5. 37℃孵育60 min。
6. 将逆转录的产物进行后续PCR反应和荧光定量PCR反应。

表1 逆转录反应体系

组成成分	体积	终浓度
10×RT Mix	2 μl	1×
Super pure dNTPs (2.5 mM each)	2 μl	0.25 mM each dNTP
Oligo-(dT) ₁₅ 或Random(10 μM)*	2 μl	1 μM
Quant Reverse Transcriptase	1 μl	(20 μl反应体系)
RNase-Free水	X μl	
模板RNA, 在第4步加入	X μl	
总体积	20 μl	

*也可根据实验具体需要,加入基因特异性引物

浓缩国际权威精华, 铸就TIANGEN优秀品质!

TIANGEN为您提供国际化标准的生物学产品和服务:

- PCR、RT-PCR系列
- 核酸DNA、RNA分离纯化系列
- DNA分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品

Quantscript RT Kit Quant cDNA第一链合成试剂盒

目录号: KR103

产品内容

产品组成	KR103-03 (25 rxn)	KR103-04 (100 rxn)
Quant Reverse Transcriptase	25 μ l	2 \times 50 μ l
Oligo (dT) ₁₅ (10 μ M)	60 μ l	240 μ l
Random (10 μ M)	60 μ l	240 μ l
10 \times RT Mix	50 μ l	200 μ l
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	2 \times 1 ml
Super Pure dNTPs(2.5 mM each)	60 μ l	240 μ l

储存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存。