

版本号: KR150710

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。

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°C保存。
 5. cDNA产物应置于-20°C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°C）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. 如果要做多个逆转录反应，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°C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



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

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