擎科生物

SynScript™ III cDNA Synthesis Mix

目录号

TSK322S

产品简介

本产品是专为两步法RT-qPCR第一链cDNA合成开发的更加简化的反应系统，主要由SynScript™ III RT Enzyme Mix和5× RT Reaction Mix组成。

SynScript™ III RT Enzyme Mix含有SynScript™ III RT、RNasin、辅助蛋白和促进因子，其中的SynScript™ III RT是M-MLV逆转录酶的突变体，经多轮改造和筛选获得，其逆转录效率大幅提升，与模板结合能力更强，续进性得到改善；热稳定性显著提高，在42°C~55°C的广泛温度范围内均具有较高活性。5×RT Reaction Mix包含dNTPs、Randomer和 Oligo $(dT)_{17}$等基础组分，各组分针对qPCR实验进行优化，能够保证qPCR结果的稳定性和重复性。本产品提供的gDNA Remover可彻底去除RNA模板中残留的基因组DNA，能够保证qPCR结果更加可靠，并可简化qPCR引物设计，无需跨内含子设计引物。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

产品组成

组分	规格
SynScript™ III RT Enzyme Mix	50 μL
5× RT Reaction Mix	200 μL
gDNA Remover	50 μL
10× gDNA Remover Buffer	50 μL
RNase-free Water	1.0 mL

产品应用

本产品合成的第一链cDNA主要用于实时荧光定量PCR反应。

产品特点

- 使用方便，操作简单，无繁琐加样步骤。
- 逆转录效率和续进性高，可获得高产量cDNA。
- 热稳定性高，有利于复杂结构RNA模板逆转录的进行。
- SynScript™ III RT Enzyme Mix中含有RNasin，能够有效抑制RNase活性，减少模板RNA的降解。

使用方法

1.基因组DNA去除反应

- 将RNA模板、RNase-free Water和10× gDNA Remover Buffer置于冰上融解备用。
- 在无核酸酶的微量离心管中，按照下方表格在冰上配制反应体系（10 μL）：

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

组分	用量
RNA模板[a]	见标注
gDNA Remover	1 μL
10× gDNA Remover Buffer	1 μL
RNase-free Water	Up to 10 μL

a. 模板为总RNA时，推荐用量为10 ng~2 μg；模板为mRNA时，推荐用量为0.5 ng~500 ng。

- 使用移液器吹打混匀体系并短暂离心，42°C孵育2 min，60°C孵育5 min。

2.逆转录反应

- 上一步反应液迅速置于冰上冷却，短暂离心后加入以下组分：

组分	用量
上一步反应液	10 μL
5× RT Reaction Mix	4 μL
SynScript™ III RT Enzyme Mix	1 μL
RNase-free water	Up to 20 μL

- 使用移液器吹打混匀体系并短暂离心，25°C孵育10 min，50°C孵育15 min。
- 85°C孵育5 min，逆转录产物置于冰上或冷藏备用。

注意事项

- 实验中应避免RNase污染，防止RNA降解或实验中的交叉污染。操作人员需佩戴口罩和一次性手套，实验中并经常更换手套，使用RNase-free耗材。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

· 为保证逆转录成功，请使用高质量的RNA。推荐使用琼脂糖凝胶电泳的方法检测RNA完整度。

· 本产品中各组分在冰上解冻后，应充分混匀并短暂离心后使用。

· 逆转录产物用于扩增反应时，其使用量不应超过总反应体积的10%。

常见问题与解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
产物用于qPCR实验，无Ct值或Ct值偏大	RNA降解	重新提取和使用新鲜RNA，推荐使用琼脂糖凝胶电泳的方法检测RNA完整度；使用RNase-free耗材
	RNA纯度不高（如苯酚、乙醇、多糖多酚等残留）	使用高质量RNA模板
	体系未充分混匀	将体系各组分置冰上溶解后，充分振荡混匀
	qPCR引物质量差	重新设计高质量引物
	cDNA长期保存于4°C	使用新获取的cDNA；cDNA长期保存推荐温度为-20°C或-80°C；cDNA应避免反复冻融
产物用于qPCR实验，Ct值过小	RNA用量或基因表达量高	适当减少RNA用量
	cDNA用量过高	适当减少cDNA用量；必要时，进行10倍的梯度稀释预试验，得到最佳稀释倍数
	逆转录/qPCR体系/环境中存在大量基因组污染	使用gDNA remover对RNA进行处理；对实验环境进行紫外辐照或使用*Trelief*® Solution核酸清洁液(目录号：TSP001) 处理

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

熔解曲线多峰	qPCR引物特异性差	重新设计高特异引物
	逆转录体系存在基因组污染	使用gDNA remover对RNA进行处理
	qPCR体系存在污染	使用RNase-free耗材
阴性对照有扩增曲线	环境或气溶胶核酸污染	对实验环境进行紫外辐照或使用*Trelief*® Solution核酸清洁液(目录号：TSP001) 处理
	qPCR体系污染	使用RNase-free耗材

保存条件

-25~-15°C保存，保质期1年。

技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：product@tsingke.com.cn。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

网址：www.tsingke.com.cn
地址：湖北省鄂州市葛店开发区东湖商新智慧城7栋

1.1.2.20211119