

SynScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA Remover) SynScript® III qPCR专用逆转录试剂(去基因组)

目录号

DLR101-50
DLR101-100

产品简介

本产品是专为cDNA第一链合成研制的预混液,其中包含了新型逆转录酶SynScript® III RT6,通过改造升级删除RNase H活性,该酶能有效减少RNA模板的降解,使其聚合酶活性和持续性大大增强;通过随机突变筛选出热稳定性强的逆转录突变体,使其反应温度提高至50°C,有利于含复杂结构RNA的逆转录进行。本产品提供5×gDNA Remover Mix,可彻底去除RNA模板中残留的基因组DNA, 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。

产品组成

组分	DLR101-50 (50次)	DLR101-100 (100次)
5× SynScript® III RT SuperMix	200 μL	2×200 μL
5×gDNA Remover Mix	100 μL	2×100 μL
RNase-free Water	1.0 mL	2×1.0 mL

01

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

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扩增反应。

产品特点

- 高质量:有效去除基因组污染,获得的数据更加真实可靠;
- 高产量:转录效率和连续性高,可获得高产cDNA;
- 高速率:逆转录反应只需15 min;
- 高效率:热稳定性强,有利于含复杂结构RNA的逆转录进行。

使用方法



图1.使用方法演示图
(注:详细操作步骤请查看下方文字描述)

1.将RNA模板和产品各组分别置于冰上融解。在无核酸酶的微量离心管中按下表在冰上配制反应体系 (10 μL)。

组分	用量
RNA模板 ^a	见标注
5×gDNA Remover Mix	2 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。

02

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

- 2.使用移液器吹打混匀体系并瞬时离心,42°C孵育2 min,60°C孵育1 min。
- 3.反应液迅速置于冰上冷却,瞬时离心后加入下方组分:

组分	用量
5× SynScript® III RT SuperMix	4 μL
RNase-free Water	Up to 20 μL

- 4.使用移液器吹打混匀体系并瞬时离心,50°C孵育15 min,85°C孵育5 s,逆转录产物置于冰上或冷藏备用。

注:逆转录产物可立即用于qPCR反应。逆转录产物请于-20°C条件存放,应避免反复冻融。

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,实验中经常更换手套,使用专门的仪器和耗材;
- 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完整性;
- 5× SynScript® III RT SuperMix为预混液,在-20°C不会冻结。使用前可颠倒数次混匀并短暂离心;
- 若为原核生物来源RNA或其他仅依赖随机引物进行逆转录的RNA,在50°C逆转录反应前增加25°C孵育10 min的反应程序,可提高产物得率;
- 逆转录产物用于qPCR反应时,其使用量不应超过总反应体积的10%。

应用实例

分别使用本产品与A公司逆转录产品,对1 μL (125 ng/μL) 小鼠 (*Mus musculus*) 总RNA进行逆转录,取1 μL 3倍稀释的逆转录产物用于GAPDH基因的qPCR扩增。结果如下:

03

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

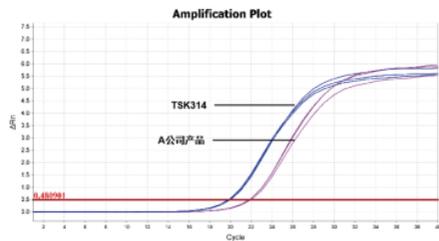


图2. 不同逆转录产品逆转录产物应用于qPCR后实验结果

保存条件

-25~-15°C保存, 保质期1年。≤0°C运输。

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	重新制备RNA, 推荐使用琼脂糖凝胶电泳的方法检测RNA完整性; 使用RNase-free耗材
	RNA纯度不高 (如苯酚等残留)	使用高质量RNA模板
	RNA浓度低或基因表达量低	适当增加RNA使用量或使用特异性引物进行逆转录
	体系未充分混匀	将体系各组分管置冰上溶解后, 充分振荡混匀
	qPCR引物质量差	重新设计高质量引物

产物用于qPCR实验, Ct值过小	cDNA降解	重新制备cDNA; 请于≤-20°C条件存放, 应避免反复冻融
	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用量或稀释后使用
	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; 使用Trelief® Solution核酸清洁液 (目录号: TSP001) 对环境进行清洁处理
产物用于qPCR实验, 熔解曲线多峰	引物特异性差	重新设计高特异引物
	基因组污染	使用gDNA remover对RNA进行处理
产物用于qPCR实验, 阴性对照有扩增曲线	qPCR体系污染	使用RNase-free耗材
	环境或气溶胶核酸污染	使用Trelief® Solution核酸清洁液 (目录号: TSP001) 对环境进行清洁处理
	qPCR体系污染	使用RNase-free耗材

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。

关联产品推荐

产品名称	货号	应用
TsingZol总RNA提取试剂	TSP401	酚氯法提取总RNA
Hi-Pure植物总RNA提取试剂盒 (双柱型)	TSP0201	常规植物组织总RNA提取
RNAprep FastPure动物组织/细胞总RNA提取试剂盒 (双柱型)	TSP413	动物与细胞总RNA提取
1.1×EasyQ SYBR qPCR Mix (Low ROX Premixed)	DLQ103	适用于SYBR Green I染料法检测及分析的荧光定量实验

