

All-in-one RT SuperMix for qPCR (With gDNA Eraser)

货号: PMK2008
保存: -20℃ 保存, 12个月有效。
规格: 50rxn/100rxn
用途: 第一链cDNA合成, 后续适用于qPCR实验。
产品简介:

本产品包含反转录第一链合成所需的所有试剂(Reverse Transcriptase、RNase Inhibitor、Random Primer、Oligo dT Primer、dNTP Mixture、Buffer), 只需一步操作, 即可在 15min 内同时完成基因组清除和逆转录反应, 85℃加热5sec, 即可失活逆转录酶、RNA酶抑制剂和gDNA Eraser。该产品操作简便、快速, 并能有效降低加样过程造成的样品污染与RNA降解的风险, 合成的第一链cDNA下游推荐用于qPCR。本品提供了NO-RT Control SuperMix, 用于配制无反转录酶的对照反应, 检验qPCR的模板是否来源于 cDNA。

产品内容:

组分名称	PMK2008-50rxn	PMK2008-100rxn
gDNA Eraser	50ul	100ul
5x All-in-one qRT SuperMix	200ul	400ul
NO-RT Control SuperMix	40ul	80ul
RNase Free H ₂ O	1ml	1ml*2

使用方法:

以20ul反转录反应体系为例:

1. 准备工作

将模板RNA在冰上解冻, RNase Free H₂O在室温(15-25℃)解冻, 解冻后迅速置于冰上, gDNA Eraser、5x All-in-one qRT SuperMix、NO-RT Control SuperMix(可选)置于冰上备用。使用前将每种溶液轻弹或者颠倒混匀, 短暂离心以收集残留在管壁的液体到管底。

2. 反转录体系配制

在RNase Free管里面加入以下成分, 建议使用PCR管冰上配制。

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤15ul
gDNA Eraser	1ul
2x All-in-one qRT SuperMix	4ul
RNase Free H ₂ O	up to 20ul

推荐添加量如下, Total RNA: 0.1ng-1ug, mRNA: 10pg-100ng (20ul体系)
用移液器轻轻吹打至充分混匀, 短暂离心收集至管底。

3. NO-RT Control 反应(可选)

NO-RT Control用于配制无逆转录酶的对照反应, 判断qPCR的模板是否来自cDNA, 在RNase Free管里面加入以下成分, 建议使用 PCR 管冰上配制。

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤15ul
gDNA Eraser	1ul
NO-RT Control SuperMix	4ul
RNase Free H ₂ O	up to 20ul

推荐添加量如下, Total RNA: 0.1ng-1ug, mRNA: 10pg-100ng (20ul体系)
用移液器轻轻吹打至充分混匀, 短暂离心收集至管底。

产品说明书

4. 反应程序

温度	时间
50℃	15min
85℃	5sec

得到的cDNA产物可立即用于qPCR反应，不立即使用应在-20℃保存，长期存放建议分装后在-70℃保存；cDNA应避免反复冻融。

5. qPCR反应

取适量反转录产物(一般未稀释cDNA原液加入量不超过qPCR反应体积的1/10)作为qPCR模板，按照荧光定量PCR试剂说明书进行下一步荧光定量PCR，如果表达基因含量丰富，可以根据实际适当稀释cDNA模板使用。

注意事项：

- 1. 所以操作均应在冰上进行，避免RNase污染
- 2. 为保证反转录反应的有效进行建议使用高质量的RNA模板。
- 3. gDNA Eraser、5x All-in-one qRT SuperMix及NO-RT Control SuperMix含有甘油，用前请充分混匀并短暂离心收集至管底再使用。
- 4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

- PMK0442 增强型BCA蛋白定量试剂盒
- PMK0443 Bradford蛋白定量试剂盒
- PMK1300 考马斯亮蓝蛋白快速染胶液
- PMK0029 PBS 缓冲液
- PMK0011 红细胞裂解液
- PMK002 抗体稀释液
- PMK1012 SDS-PAGE凝胶制备试剂盒
- PMK0090 PBST 缓冲液

更多产品详情了解，请关注公众号：

