

EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix

EasyScript一步法去除gDNA及第一链cDNA合成试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AE311

版本号: Version 2.1

保存: -18℃及其以下温度下保存两年。

产品说明

本产品以RNA为模板，在同一反应体系中，合成第一链cDNA的同时去除RNA模板中残留的基因组DNA。反应结束后，只需在85℃加热2分钟，即可同时失活EasyScript® RT/RI与gDNA Remover。

特点

- 在同一反应体系中，同时完成反转录与基因组DNA的去除，操作简便，降低污染机率。
- 产物用于qPCR：反转录15分钟；产物用于PCR：反转录30分钟。
- 反应结束后，同时热失活RT/RI与gDNA Remover。与传统的用DNase I预处理RNA的方法相比，避免了处理后热失活DNase I对RNA的损伤。
- 操作简单。
- 合成片段≤8 kb。

适用范围

高拷贝基因检测。

试剂盒组成

Component	AE311-02 (50 rxns)	AE311-03 (100 rxns)	AE311-04 (500 rxns)
EasyScript® RT/RI Enzyme Mix	50 µl	100 µl	5×100 µl
gDNA Remover	50 µl	100 µl	5×100 µl
2×ES Reaction Mix	500 µl	1 ml	5×1 ml
Random Primer (0.1 µg/µl)	50 µl	100 µl	5×100 µl
Anchored Oligo(dT) ₁₈ Primer (0.5 µg/µl)	50 µl	100 µl	5×100 µl
RNase-free Water	500 µl	1 ml	5 ml

使用前，请将各组份点甩离心。

第一链cDNA合成和gDNA去除

1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	0.1 ng-5 µg/10 pg-500 ng
Anchored Oligo(dT) ₁₈ Primer (0.5 µg/µl)	1 µl
or Random Primer (N9) (0.1 µg/µl)	1 µl
or GSP	2 pmol
2×ES Reaction Mix	10 µl
EasyScript® RT/RI Enzyme Mix	1 µl
gDNA Remover	1 µl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 µl

2、轻轻混匀

- 如用Anchored Oligo(dT)₁₈或基因特异引物(GSP)，产物用于qPCR：42℃孵育15分钟；产物用于PCR：42℃孵育30分钟。



- 如用Random Primer(N9)，25℃孵育10分钟后，产物用于qPCR：42℃孵育15分钟；
产物用于PCR：42℃孵育30分钟。

3、85℃加热2分钟失活*EasyScript*® RT/RI与gDNA Remover。

推荐qPCR体系与条件 (以20 μ l 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	0.4 μ l	0.2 μ M
2× <i>PerfectStart</i> ® Green qPCR SuperMix	10 μ l	1×
Passive Reference Dye (50×) (optional)	0.4 μ l	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μ l	-

qPCR (三步法)

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
50-60℃ 15 sec ★
72℃ 10 sec ★

40-45 cycles

Dissociation Stage

对于ABI仪器，荧光信号采集步骤 (三步法中可以是退火或是延伸步骤) 的时间如下

- ★使用ABI Prism7700/7900时，采集时间设定为30秒；
- ★使用ABI Prism7000/7300时，采集时间设定为31秒；
- ★使用ABI Prism7500时，采集时间设定为34秒；
- ★使用ABI ViiA 7时，采集时间设定为至少19秒。

高扩增效率选择三步法。高特异性选择两步法。

qPCR (两步法)

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
60℃ 30 sec ★

40-45 cycles

Dissociation Stage

推荐PCR体系与条件 (以50 μ l 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μ M)	1 μ l	0.2 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	1 μ l	0.2 μ M
2× <i>TransTaq</i> ® HiFi PCR SuperMix II	25 μ l	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 μ l	-

PCR

94℃ 2-5 min
94℃ 30 sec
50-60℃ 30 sec
72℃ 1-2 kb/min
72℃ 5-10 min

35-40 cycles

注意事项

- 避免RNase污染。
- 为了保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。
- 对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议将RNA模板、引物与RNase-free Water混匀，65℃孵育5分钟后，冰浴2分钟，然后再加入其它反应组分。
- 一步混匀所有的反应组分可以成功完成大多数反转录反应。对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议按照说明书增加模板与引物的热孵育步骤。
- 产物用于qPCR时，对于某些特殊基因，为获得更好扩增效果，可适当延长42℃孵育时间为30分钟。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.1-202511

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

