AipScript First-Strand cDNA Synthesis RT-PCR Kit (With SuperMix)

使 用 说 明 书

包 装 量：

目录编号	包装单位
RT313-01	50 次*20uL
RT313-02	100 次*20uL

Components	RT313-01	RT313-02
5× AipScript RT MasterMix	200μL	400μL
RNase-free Water	1mL	1.5mL

产品储存：4 温度运输，-20℃保存，有效期 12 个月。

制品说明：本制品采用分子进化技术多点突变的新一代反转录酶，大幅度提高了稳定性和反转录效率。5× AipScript RT MasterMix 为一管式反转录预混 Mix，含有反转录所需的所有试剂(AipScript H^- RTase、RNase Inhibitor、Random primers、Oligo(dT) Primer、dNTP Mixture、Buffer)，只需加入模板 RNA 和水即可进行反应。使得 cDNA 的合成更加的方便快捷，特别适合 cDNA 合成以后的两步法 Real Time PCR 检测。

适用范围：第一链cDNA合成。可用于高拷贝、低拷贝基因的检测。

产品特点：

1. 新一代反转录酶大幅度提高了稳定性和反转录效率。
2. 全预混的反转录Mix，只需加入RNA和水，15分钟简单快速完成反转录。
3. RNA模板的体积最多可加到总体积的80%，非常适合于低浓度RNA模板的逆转录反应。
4. 预混合Mix在-20℃不冻结，减少了化冻和混匀时间，使用更简单便捷。
5. 本产品针对qPCR进行特别优化oligo(dT)和N6随机引物配比，使cDNA合成可从RNA转录本的各个区域起始并具有相同的反转录效率，最大程度保证了qPCR结果的真实性和可重复性。

第一链cDNA合成：(以20μL反应体系为例，也可以采用10μL反应体系)

1. 将模板RNA和5× AipScript RT MasterMix在冰上解冻；RNase-free Water在室温(15-25℃)解冻，解冻后迅速置于冰上。使用前将每种溶液轻弹或者轻微涡旋振荡混匀，可简短离心以收集残留在管壁的液体到管底。
2. 在RNase-free管里面加入以下成分：(建议使用PCR管冰上配制，置PCR仪反应)

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤ 16μL *
5× AipScript RT MasterMix	4μL(见注意事项 3)
RNase-free Water	to 20μL(补足到总体积 20μL)

■Total RNA不超过2μg，mRNA不超过200ng(20μL体系)

3. 移液器轻轻吹打混匀(总体积20μL)。
   如使用mRNA模板是来源于真核细胞(如人、小鼠的组织细胞)含有Poly(A)尾结构，42℃孵育15 min。
   如使用mRNA模板是来源于原核细胞(细菌)或者病毒等不含Poly(A)尾结构，25℃孵育10 min，42℃孵育15 min。
   注意：如果模板具有复杂二级结构或高GC区域，可尝试将反应温度提高至50℃，有助于提高产量。
4. 85℃加热 5 sec 失活AipScript H^- RTase。
5. 得到的cDNA产物可立即用于qPCR反应，或在-20℃保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在-70℃保存。cDNA应避免反复冻融。

RT-qPCR：取适量反转录cDNA产物(一般不超过qPCR反应体积的1/10)作为qPCR模板，按照厂家荧光定量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. 避免RNase污染，为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。
2. 5× AipScript RT MasterMix 非常粘稠，溶液容易吸附在管壁和吸头外导致损失，用前请点甩离心后使用，并且避免吸头外壁沾附损失。5× AipScript RT MasterMix内包含的酶均为过量，即使每次按照3.6μL-3.8μL使用，也不影响使用效果。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本产品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等。

==========

扫码关注我们