ABScript III RT Master Mix for qPCR

产品目录号：RK20428

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1 20 RXN	规格-2 100 RXN
5X ABScript III RT Mix *	RM21478	80 µL	400 µL
Nuclease-free H_2O	RM20214	1.25 mL	2 × 1.25 mL

***注：5X ABScript III RT Mix 包含 ABScript III Reverse Transcriptase、RNase Inhibitor、dNTPs、Random Primers/Oligo(dT)$_{20}$VN Primer Mix 等。**

产品说明

ABScript III RT Master Mix for qPCR 是一款高效、快捷的 cDNA 一链合成预混液，适用于两步法 RT-qPCR 检测。本产品中的 5X ABScript III RT Mix 中含逆转录反应所需的所有相关试剂，只需加入 RNA 模板和无酶水即可进行逆转录反应，操作简单。预混液中的 ABScript III Reverse Transcriptase（ABclonal RK20408）是基于 M-MuLV 开发的第三代逆转录酶，降低了 RNase H 活性，提高了热稳定性，反应温度高达 55°C，大幅提升了逆转录效率和对复杂模板（大量二级结构或高 GC 比例）的耐受性，具有更高的特异性、更高的产量。

本品针对 qPCR 进行特别优化，按比例优化的 Random Primers/Oligo d(T)$_{20}$VN Primer Mix 使 cDNA 的合成可从 RNA 转录本各区域起始并具有相同逆转录效率，最大程度保证了 qPCR 结果的真实性和可重复性。逆转录产物兼容 SYBR Green 和探针法 qPCR，可以根据实验目的，选择相应的试剂配合使用，进行高性能的基因表达分析。

保存条件

-20℃保存

注意事项

1. 使用 5X ABScript III RT Mix 时，请充分融解，混匀后使用，避免强光直射。若同时需要配制多个 5X ABScript III RT Mix 反应时，应提前配制好所需的工作液，然后再分装到每个反应管，减少试剂损失。
2. 分取之前请瞬时离心收集到管底后使用，使用后立即放回-20℃冰箱保存。
3. 反应液的配制和分装一定使用无污染的枪头、Microtube，尽量避免污染。
4. 本试剂不含 gDNA 去除成分，如需去除 gDNA，请使用 RK20429 ABScript III RT Mix for qPCR with gDNA Remover。
5. 预混液中已经包含 Oligo(dT)$_{20}$VN 和随机引物，不仅适用包含 Poly(A)结构的真核生物 mRNA，也适用于不含 Poly(A)结构的原核生物 RNA、真核生物 rRNA 和 tRNA 等模板，但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板。

操作方法

实验准备

1. 自备器材：1.5 mL RNase-free EP 管、200 µL RNase-free PCR 管、RNase-free 移液器吸头、移液器、PCR 仪（及 qPCR 仪）、冰盒或冰。
2. RNA：完整高质量的 RNA 对于获得高质量的 cDNA 至关重要。实验前请检测 RNA 是否降解或污染。对于含有高 GC 或复杂二级结构的 RNA，可以 65℃ 5 min（然后迅速置于冰上）预处理后，再进行逆转录反应。

实验流程

1. 逆转录反应体系

在冰上按下述推荐加入各组分到 RNase-free PCR 管中，混匀并瞬时离心：

组分	加入量
5X ABScript III RT Mix	4 µL
Total RNA	10 pg-1 µg *
Nuclease-free H_2O	补足至 20 µL

***注：根据实验要求加入合适的 RNA 量。RNA 模板体积较大时，请确保 RNA 是溶于水中而不是 TE Buffer 中，因为 TE 会抑制逆转录反应。**

2. 逆转录反应条件

在 PCR 仪上按以下反应程序进行逆转录反应：

温度	时间
55 ℃ *	15 min
85 ℃	5 min
4 ℃	Hold

***注：若目标 RNA 不含 Poly(A)结构，可预先 25℃温育 10 min。**

逆转录产物(RT 反应液)可立即进行后续 qPCR 反应，或置于 -20 °C 保存并在半年内使用；长期存放建议分装后在-80°C 保存。cDNA 应避免反复冻融。

E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.