

ATGScript® All-in-one RT Mix for qPCR

qPCR 专用一步逆转录预混液

R123

Version 23.1.1



产品说明书
PRODUCT MANUAL

南京巨匠生物科技有限公司
ATG BIOTECHNOLOGY CO.,LTD

目录 Product Manual

产品简介	1
产品特点	1
产品组成	1
产品应用	1
储存条件	1
实验方案	2
实验案例	3
注意事项	4

产品简介

ATGScript® All-in-one RT Mix for qPCR 是 ATGScript® RT Mix for qPCR (+gDNA wiper)的升级款，本方案逆转录与基因组去除反应仅一步反应即可同时完成，并可有效解决加样复杂造成污染或者重复性不好问题。本产品包含 M-MLV (H-) Reverse Transcriptase II (耐受 72°C)、一步反应优化的最适反应 Buffer，性能总体表现延续上一代产品 (ATG #R113)，cDNA 产量高且可长久稳定保存，产物可兼容染料法和探针法荧光定量，用于常规基因表达分析。

产品特点

简便化操作

RNA 样本逆转录与基因组去除可 15 min 内一步完成

产物耐保存

高效基因组去除无残留，cDNA 保存长久稳定

产品组成

组分	R123 (100 rxns) (20 µl/rxn)
RNase-free ddH ₂ O	2 × 1 ml
Enzyme Mix	100 µl
5 × All-in-one RT Mix	400 µl
Control No RT Mix	20 µl

产品应用

本品广泛适用于两步法 RT-qPCR 定量分析基因表达量中的动植物及微生物 RNA 的逆转录合成 cDNA

储存条件

-30 ~ -15°C 保存，于 -20 ~ 0°C 运输。▲避免反复冻融。

实验方案

1. 体系配制

组分	用量
RNase-free ddH ₂ O	to 20 μ l
5 \times All-in-one RT Mix	4 μ l
Enzyme Mix	1 μ l
Template RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μ g

用移液器轻轻吹打 8 - 10 次至充分混匀，短暂离心收集至管底。

No RT Control (可选)

No RT Control 是指不加逆转录酶的逆转录阴性对照反应,用于检验 RNA 模板中是否有基因组 DNA 残留。

在 RNase-free 离心管中配制如下混合液:

组分	用量
RNase-free ddH ₂ O	to 20 μ l
5 \times All-in-one RT Mix	4 μ l
Control No RT Mix	1 μ l
Template RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μ g

用移液器轻轻吹打 8 - 10 次至充分混匀，短暂离心收集至管底。

2. 程序设置

步骤	温度	时间
逆转录	50°C	15 min
结束反应	85°C	2 min

逆转录产物可立即用于 qPCR 反应，或于 -30 ~ -15°C 保存，并建议在半年内使用；长期存放建议分装后于 -85 ~ -65°C 保存，cDNA 应避免反复冻融。

实验案例

cDNA 产物稳定

使用小麦 RNA 500 ng/μl 为模板，经 ATGScript® All-in-one RT Mix for qPCR 试剂逆转录后得到的产物，对逆转录产物进行冻融测试，结果表明逆转录产物 cDNA 经冻融 10 次，30 次，50 次之后，与-20°C保存的产物之间的扩增 ΔCt 值绝对大小在 0.5 以内，表示 cDNA 具有良好的稳定性 (Fig. 1)。

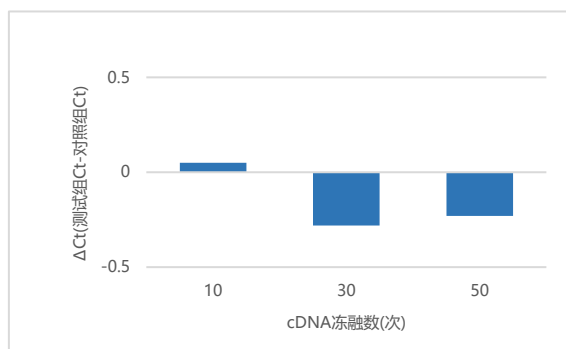


Fig. 1 逆转录产物 cDNA 冻融稳定性

卓越的逆转录&基因组去除

ATG #R123 与竞品相同程序条件下，共同处理不同模板(小麦或小鼠)及投入量的 RNA，然后通过同一 qPCR 试剂进行逆转录效率及基因组去除效果验证，结果表明 ATG #R123 的逆转录产物 cDNA 定量检测整体 Ct 值较小，说明逆转录效率优于竞品；ATG #R123 的逆转录产物 gDNA 定量检测整体 Ct 值较大，说明试剂去基因组效果优于竞品 (Fig. 2)。

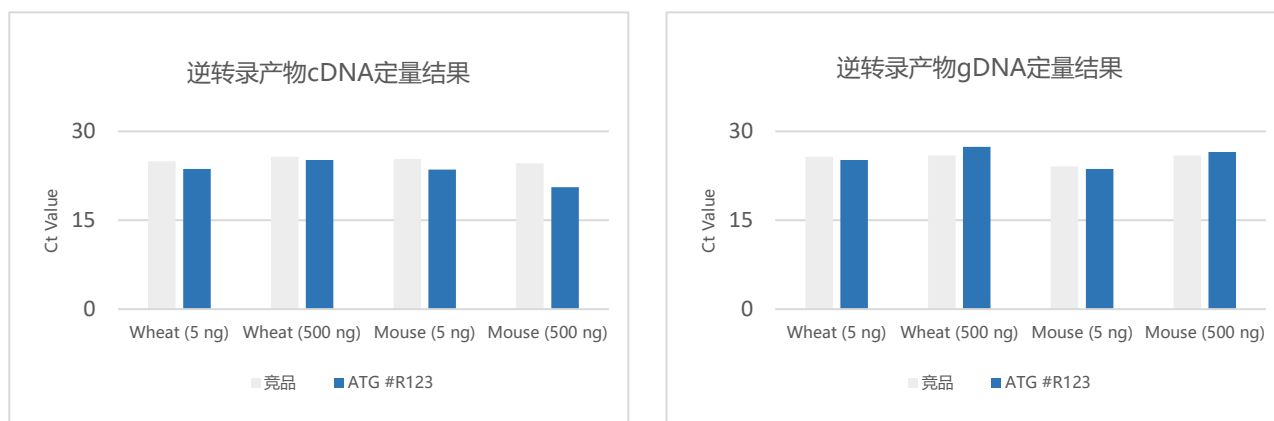


Fig. 2 逆转录效率及基因组去除效果测试

注意事项

- ❖ 在完成反应体系配制后,请务必使用移液器吹打 8 - 10 次至充分混匀,否则会影响实验数据的稳定性。
- ❖ 请将 Enzyme Mix、5 × All-in-one RT Mix 及 Control No RT Mix 置于冰上。
- ❖ Enzyme Mix、5 × All-in-one RT SuperMix 及 Control No RT Mix 含有高浓度的甘油,使用前请短暂离心收集至管底,并用移液器轻轻吹打充分混匀后,准确吸取。
- ❖ 20 μl 逆转录反应体系建议加入不超过 1 μg 的 Total RNA。如果目的基因表达量非常低,最多加入 5 μg Total RNA,否则加入 RNA 量过高,可能会超出后续 qPCR 的线性范围。
- ❖ 若使用 cDNA 产物原液直接作为 qPCR 反应的模板,建议 cDNA 产物的体积不超过 qPCR 反应体积的 1/10。
- ❖ 逆转录产物可立即用于 qPCR 反应,或于 -30 ~ -15°C 保存,并在半年内使用;长期存放建议分装后于 -85 ~ -65°C 保存,cDNA 应避免反复冻融。



025-85653525

www.atgbiotechnology.com

南京市栖霞区江苏生命科技园D6幢710室