

# 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 1.1

保存: -18°C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°C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) <sub>18</sub> Primer (0.5 µg/µl) | 50 µl              | 100 µl              | 5×100 µl            |
| RNase-free Water                                    | 500 µl             | 1 ml                | 5 ml                |

使用前, 请将各组分点甩离心。

### 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) <sub>18</sub> 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)<sub>18</sub>或基因特异引物(GSP), 产物用于qPCR: 42°C孵育15分钟; 产物用于PCR: 42°C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 µl 反应体系为例)

| Component                              | Volume   | Final Concentration |
|----------------------------------------|----------|---------------------|
| Template                               | Variable | as required         |
| Forward Primer (10 µM)                 | 0.4 µl   | 0.2 µM              |
| Reverse Primer (10 µM)                 | 0.4 µl   | 0.2 µM              |
| 2×PerfectStart® Green qPCR SuperMix    | 10 µl    | 1×                  |
| Passive Reference Dye (50×) (optional) | 0.4 µl   | 1×                  |
| Nuclease-free Water                    | Variable | -                   |
| Total volume                           | 20 µl    | -                   |

**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。

**推荐PCR体系与条件** (以50 µl 反应体系为例)

| Component                        | Volume   | Final Concentration |
|----------------------------------|----------|---------------------|
| Template                         | Variable | as required         |
| Forward Primer (10 µM)           | 1 µl     | 0.2 µM              |
| Reverse Primer (10 µM)           | 1 µl     | 0.2 µM              |
| 2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II | 25 µl    | 1×                  |
| Nuclease-free Water              | Variable | -                   |
| Total volume                     | 50 µl    | -                   |

**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: V1.1-202509

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

