

货号：BR1D303

## 4×Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR

2025V01



### 产品概述

Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR 试剂盒提供了所有用于 cDNA 第一链合成的试剂，可在一管内进行基因组清除与 RNA 逆转录两个反应，可有效降低复杂加样过程造成的样品污染和 RNA 降解的风险，使定量结果更加准确，并可简化 qPCR 引物设计，无需跨内含子设计引物。本产品中 4×Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR 是一款高效、快捷的 cDNA 一链合成预混液，最快可在 5 min 内完成基因组清除和逆转录反应，加入 RNA 模板和无酶水即可进行逆转录反应。使用本制品合成的 cDNA 可兼容染料法和探针法 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。

### 试剂组成

| 组分                                                     | BR1D303-01<br>100 rxns (20 µL/rxn) | BR1D303-02<br>500 rxns (20 µL/rxn) |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 4×Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR* | 500 µL                             | 5×500 µL                           |
| RNase-free ddH <sub>2</sub> O                          | 2×1mL                              | 10×1mL                             |

\*本试剂含有热敏型 DNase, Random 6 mers、Oligo (dT)18 Primer 两种引物以及 dNTPs，可同时完成基因组 DNA 去除和均匀合成各种 cDNA。

### 保存条件

-20±5℃长期保存。

### 注意事项

1. 本产品采用热敏型 DNase，请务必将 4×Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR 置于冰上。
2. cDNA 产物可直接用作 qPCR 反应的模板。建议作为模板的 cDNA 产物的体积不超过 qPCR 反应体积的 1/10。
3. 使用前应混匀，避免反复冻融。
4. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。

### 逆转录反应体系配制

1. 体系配制（在冰上进行配制）。

| 试剂                                                    | 加入量         |
|-------------------------------------------------------|-------------|
| 4×Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR | 5 µL        |
| Template RNA                                          | 10 pg~1 µg* |
| RNase-free ddH <sub>2</sub> O                         | To 20 µL    |

\*根据实验要求加入合适的 RNA 量。

货号: BR1D303

## 4×Neoscript All-in-One cDNA Synthesis Premix for qPCR

2025V01



### 2. 轻轻混匀, 按照如下反应程序进行逆转录

| 温度                | 时间                |
|-------------------|-------------------|
| 42°C <sup>1</sup> | 5min <sup>2</sup> |
| 85°C              | 5sec              |

- 1.对于具有复杂二级结构或高 GC 区域的模板, 可适当升高反应温度。
- 2.长片段扩增可延长逆转录时间至 10 min, 延长反应时间可提高 cDNA 得率。
- 3.产物可直接用于 qPCR 反应, 或-20°C 短期保存; 若需长期保存, 建议分装后, 于-80°C 保存, 避免反复冻融。

## qPCR 反应体系配制

本产品进行逆转录后, 推荐使用 FastAmpli SYBR qPCR Premix (Universal Rox) (BR1E102) 和 Robustart SYBR qPCR Premix (Universal Rox) (BR1A501) 试剂, 在荧光定量 PCR 仪器上进行后续 qPCR 检测的过程; 以下是以 BR1E102 为例, 进行体系配制如下:

| 试剂                                           | 20 μL 体系 |
|----------------------------------------------|----------|
| 2×FastAmpli SYBR qPCR Premix (Universal ROX) | 10 μL    |
| Forward Primer (10 μM)                       | 0.4 μL   |
| Reverse Primer (10 μM)                       | 0.4 μL   |
| Template DNA                                 | —        |
| RNase-free ddH <sub>2</sub> O                | To 20 μL |

## 反应条件

| 普通 PCR 程序 |        |      |     |
|-----------|--------|------|-----|
| 步骤        | 温度     | 时长   | 循环数 |
| 预变性       | 95℃    | 30 s | 1   |
| 变性        | 95℃    | 10 s | 40  |
| *退火延伸     | 56~64℃ | 30 s |     |
| *熔解曲线分析   |        |      |     |

| 快速 PCR 程序 |        |       |     |
|-----------|--------|-------|-----|
| 步骤        | 温度     | 时长    | 循环数 |
| 预变性       | 95℃    | 1 min | 1   |
| 变性        | 95℃    | 1 s   | 40  |
| *退火延伸     | 56~64℃ | 10 s  |     |
| *熔解曲线分析   |        |       |     |

## Q&A

Q1: 转录后的产物是什么? 是双链的 DNA 吗?

A1: 反转录后的产物是 RNA 和 cDNA 的杂交链, 并不是 DNA 双链, 其稳定性相较于后者来说要低一些。

Q2: RT-qPCR 后, 无扩增曲线的原因?

A2: 在反转录反应前建议电泳验证 RNA 的完整性, 确认 RNA 没有降解。RNA 不要保存时间过长, 尽快进行上机操作。