

Version: AG 1.2 (2023.06.02修订)

SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR

(With gDNA Eraser)

目录号: AG0305

01/产品组分

序号	组分	AG0305-A 50 rxn(20μL/rxn)	AG0305-B 100 rxn(20μL/rxn)	AG0305-C 500 rxn(20μL/rxn)
1	gDNA Eraser	50 μL	100 μL	
2	2×SPARKscript II All-in-one qRT SuperMix	500 μL	1 mL	AG0305-B×5
3	NO-RT Control SuperMix	50 μL	100 μL	
4	RNase Free H ₂ O	1 mL	1 mL×2	

02/保存条件

本产品所有组分-20℃保存。

03/产品概述

本产品包含反转录第一链合成所需的所有试剂（SPARKscript II Reverse Transcriptase、RNase Inhibitor、Random Primer、Oligo dT Primer、dNTP Mixture、Buffer），只需一步操作，即可在 15min 内同时完成基因组清除和逆转录反应，85℃加热 5sec，即可失活逆转录酶、RNA 酶抑制剂和 gDNA Eraser。该产品操作简便、快速，并能有效降低加样过程造成的样品污染与 RNA 降解的风险，合成的第一链 cDNA 下游推荐用于 qPCR。

另外，本品提供了 NO-RT Control SuperMix，用于配制无反转录酶的对照反应，检验 qPCR 的模板是否来源于 cDNA。

04/适用范围

第一链cDNA合成，后续适用于qPCR实验。

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有操作均应在冰上进行，避免 RNase 污染。
- ◇ 为保证反转录反应的有效进行，建议使用高质量的 RNA 模板。
- ◇ gDNA Eraser、2×SPARKscript II All-in-one qRT SuperMix 及 NO-RT Control SuperMix 含有甘油，用前请充分混匀并短暂离心收集至管底再使用。

06/实验流程

以20 μL反转录反应体系为例：

1. 准备工作

将模板 RNA 在冰上解冻，RNase Free H₂O 在室温（15-25℃）解冻，解冻后迅速置于冰上，gDNA Eraser、2×SPARKscript II All-in-one qRT SuperMix、NO-RT Control SuperMix（可选）置于冰上备用。使用前将每种溶液轻弹或者颠倒混匀，短暂离心以收集残留在管壁的液体到管底。

2. 反转录体系配制

在 RNase Free 管里面加入以下成分，建议使用 PCR 管冰上配制。

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤9 μL [▲]
gDNA Eraser	1 μL
2×SPARKscript II All-in-one qRT SuperMix	10 μL
RNase Free H ₂ O	up to 20 μL

▲推荐添加量如下，Total RNA: 0.1 ng-1 μg，mRNA: 10 pg-100 ng（20 μL体系）。

用移液器轻轻吹打至充分混匀，短暂离心收集至管底。

3. NO-RT Control 反应（可选）

NO-RT Control 用于配制无逆转录酶的对照反应，判断 qPCR 的模板是否来自 cDNA，在 RNase Free 管里面加入以下成分，建议使用 PCR 管冰上配制。

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤9 μL [▲]
gDNA Eraser	1 μL
NO-RT Control SuperMix	10 μL
RNase Free H ₂ O	up to 20 μL

▲推荐添加量如下，Total RNA: 0.1 ng-1 µg, mRNA: 10 pg-100 ng (20 µL体系)。

用移液器轻轻吹打至充分混匀，短暂离心收集至管底。

4. 反应程序

温度	时间
50℃	15min
85℃	5sec

得到的cDNA产物可立即用于qPCR反应，不立即使用应在-20℃保存，长期存放建议分装后在-70℃保存；cDNA应避免反复冻融。

07/qPCR反应

取适量反转录产物（一般未稀释 cDNA 原液加入量不超过 qPCR 反应体积的 1/10）作为 qPCR 模板，按照荧光定量 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。

08/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

AC0202 SPARKeasy 组织/细胞RNA快速提取试剂盒（含基因组DNA清除柱）

AC0205 SPARKeasy 细胞RNA快速提取试剂盒

AC1705 高效固体表面RNase清除剂

AH0104 2×SYBR Green qPCR Mix（With ROX）

AH0201 2×Spark Probe qPCR Mix

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

