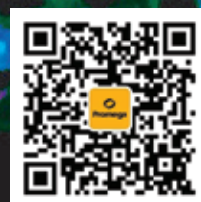




Promega

GoScript™

反转录解决方案



欢迎关注 Promega 官方微信



目录

● GoScript™ 反转录系列产品	4
● AMV Reverse Transcriptase 产品	6
● M-MLV Reverse Transcriptase 产品	6
● M-MLV Reverse Transcriptase, RNase H Minus 产品	6
● RNA 纯化相关产品	8
● 染料法 qPCR 相关产品	9
● 探针法 qPCR 相关产品	10
● 终点法 PCR 相关产品	11



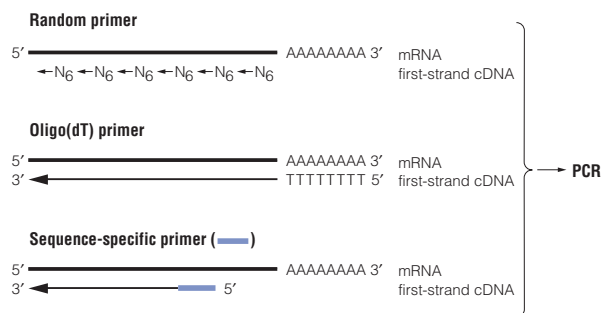
反转录是以 RNA 为模板合成 DNA 的过程，即 RNA 指导下的 DNA 合成。反转录过程由反转录酶催化，该酶也称依赖 RNA 的 DNA 聚合酶，即以 RNA 为模板催化 DNA 链的合成。合成的 DNA 链称为与 RNA 互补 DNA (complementary DNA, cDNA)。反转录酶已成为分子生物学实验重要且常用的工具之一。

反转录实验看似简单，却受到多种因素的影响，如模板、引物、酶以及反应条件等。

不同的反转录酶具有不同的功能活性，除了 RNA 指导的 DNA 聚合酶活性以外，还有 RNaseH 活性，热稳定性，保真性，抗抑制剂能力等，从而表现出不同的反转录效率，如合成 cDNA 的长度，产量，对复杂模板的适应程度等。

Promega 作为分子生物学工具的资深供应商，为您获得更好的下游实验结果提供多种反转录解决方案。

First Strand Synthesis:



如何选择反转录酶

[点击此处了解反转录酶选择指导信息](#)

GoScript™ 反转录系列产品

GoScript™ Reverse Transcription Products

一种酶，4种简便的产品模式

GoScript™ 反转录酶有4种产品模式提供：

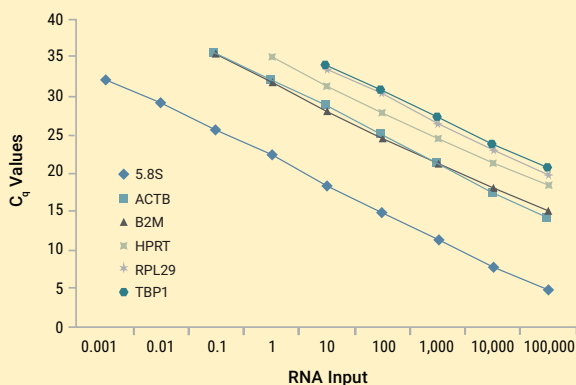
- 独立的酶产品 -GoScript™ Reverse Transcriptase
- 完整反转录试剂盒 -GoScript™ Reverse Transcription System
- 含有 Oligo (dT) 引物或 Random Primer 的预混液 -GoScript™ Master Mix。

GoScript™ 反转录系列产品主要基于 Promega 研发的高灵敏度、高效反转录酶，是挑战性模板的理想选择。GoScript™ 反转录酶系统采用先进的缓冲液技术，与 qPCR 体系具有更好的兼容性，能稳定可靠地合成 cDNA，低丰度和高丰度转录子均适合，可转录长达 10kb 的片段，对常见的抑制剂均有较强抵抗力。

特点：

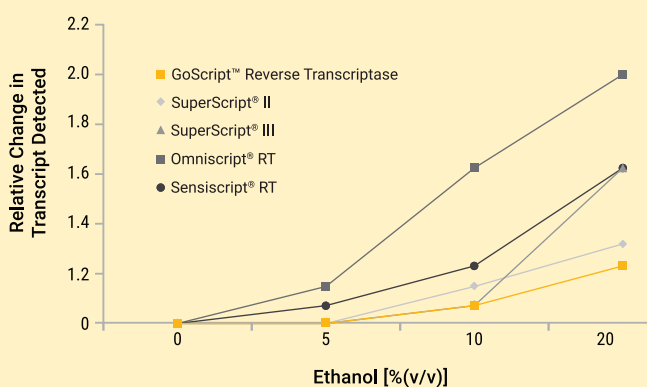
- 在很宽的 RNA 模板量范围里均可高效合成 cDNA。
- 扩增能力强：可转录长达 10kb 的片段。
- 高灵敏度：对不同丰度的 RNA 模板具有很好的灵敏度，可有效反转录低丰度转录子。
- 适应性强：可有效的抵抗乙醇，苯酚，血红蛋白等抑制剂的影响。
- 对于预混液产品，2 个不同引物的产品体系可混合使用：可进行同时含有 Oligo(dT) 和 Random Primer 的混合体系反应。（请咨询 Promega 公司或登录 Promega 微信公众号获得中文操作说明）
- 操作快速：可在 30 分钟内完成反转录扩增。（请咨询 Promega 公司或登录 Promega 微信公众号获得中文操作说明）

在很宽的 RNA 模板量范围里均可高效合成 cDNA



上图：使用 GoTaq® 2-Step RT-qPCR System 从人类总 RNA 中直接定量 6 种不同的靶标。进行 9 个平行的 GoScript™ RT 反应，加入的对照人类总 RNA 量 (10ng/μl to 0.1fg/μl) 对数级梯度变化。每个 RT 反应产物的 10ul 对应 100ng-1fgRNA，无稀释直接作为样本加入到 3 个同样的 GoTaq® qPCR 反应中进行 6 组独立的检测扩增。每个检测都特异性针对不同的 RNA 靶标，具有预期的不同比例的表达水平：极高表达水平 (5.8S rRNA)，高表达水平 (ACTB 和 B2M)，中等表达水平或低表达水平 (RPL29 和 TBP1)。在每种不同的模型中，其结果证明每 $\Delta \log$ RNA 模板量会有预期的 ≈ 3.3 循环的变化，不同的 Cq's 反应了总 RNA 样本中的相对比例。

对常见的抑制剂有抵抗力



上图：按照操作说明，使用 oligo(dT) 反转录 1.2kb Kanamycin Control RNA，反转录反应中添加不同浓度乙醇 (5%, 10% 和 20%)。使用 GoTaq® qPCR Master Mix (目录号 A6001) 进行 qPCR 分析反转录结果。Cq 值变化 (加入抑制剂的 Cq - 无抑制剂的 Cq) 折算成转录水平变化 ($2^{Cq_{inhibitor} - Cq_{none}}$)。数据来自三次独立实验的平均值，结果表明，Promega 的 GoScript™ 反转录酶具有很好的抗抑制剂效果。

GoScript™ 反转录试剂盒

GoScript™ Reverse Transcription System

GoScript™ 反转录试剂盒为高效合成 cDNA 第一条链而设计，包括 GoScript™ 反转录酶，反应缓冲液，MgCl₂，dNTP Mix，Oligo(dT)，随机引物和 Recombinant RNasin® RNA 酶抑制剂等除模板外所有反转录所需的组分。可高效反转录 RNA 模板，包括总 RNA，poly(A)+ mRNA 或合成的转录 RNA。

[中文简要操作指导请点击此处获取](#)

产品	规格	目录号
GoScript™ Reverse Transcription System	50 reactions	A5000
	100 reactions	A5001

GoScript™ 反转录预混液

GoScript™ Reverse Transcription Mix

Goscript™ Master Mix 系列产品是即用型反转录混合液，包含除模板以外的所有反转录组分试剂，可高效合成 cDNA 第一条链，适合低丰度和高丰度的各种转录子，可有效抵抗抑制剂的影响。可最短在 **30** 分钟内完成反转录反应，反应体积可低至 10ul。产物可用于下游的 PCR 和 qPCR 反应。

可进行同时含有 Oligo(dT) 和 Random Primer 的混合体系反应。请咨询 Promega 公司或登录 Promega 微信公众号获得中文操作说明。

[中文简要操作指导请点击此处获取](#)

产品	规格	目录号
GoScript™ Reverse Transcription Mix, Oligo(dT)	50 reactions	A2790
	100 reactions	A2791
GoScript™ Reverse Transcription Mix, Random Primers	50 reactions	A2800
	100 reactions	A2801

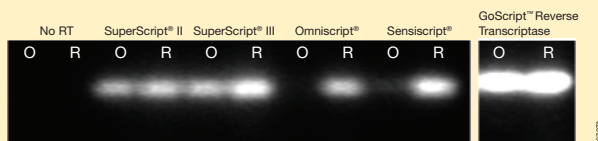
GoScript™ 反转录酶

GoScript™ Reverse Transcriptase

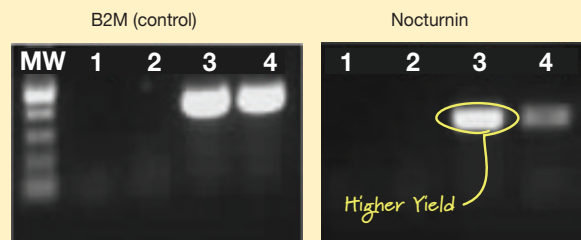
GoScript™ 反转录酶采用先进的缓冲液技术，与 qPCR 体系具有更好的兼容性，能稳定可靠地合成 cDNA，适合各种范围的低丰度和高丰度转录子，对常见的抑制剂均有较强抵抗力。产物可用于下游的 PCR 和 qPCR 反应。

产品	规格	目录号
GoScript™ Reverse Transcriptase	100 reactions	A5003
	500 reactions	A5004

GoScript™ 反转录酶轻松反转录长片段和复杂二级结构的模板



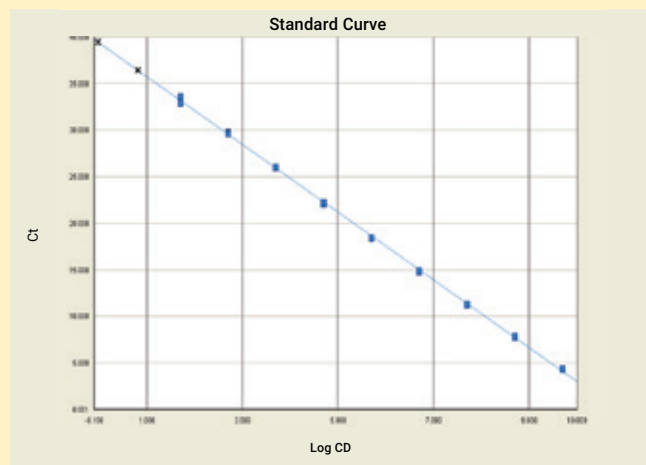
上图：以人类总 RNA 为模板，使用 Goscript™ 反转录酶和 Oligo(dT)(O) 或随机引物 (R) 进行反转录。以 GoTaq® Green Master Mix 进行终点法 PCR 分析转录产物，扩增 8.9kb APC cDNA 的 5' 端 940bp 片段，PCR 结果如图。凝胶图像三次独立实验的代表性结果。No RT 为对照组，无反转录酶。



1) No-template control 2) No-RT control
3) GoScript™ Reverse Transcriptase 4) SuperScript® III

上图：以人类总 RNA 为模板，使用 Goscript™ 反转录酶和 Oligo(dT)(O) 反转录人类总 RNA。反应在 SuperScript® III 推荐的 50℃ 进行。以 GoTaq® Green Master Mix 分析 B2M(对照) 或 GC- 含量丰富的 Nocturnin。

GoScript™ 反转录酶合成的 cDNA 可直接用于 qPCR



Goscript™ 反转录酶扩增得到的模板，使用 GoTaq qPCR Master Mix 进行 qPCR 实验。qPCR 荧光信号与加入的 cDNA 模板量呈线性关系，线性范围超过 9 个数量级。

其他反转录系列产品

» AMV Reverse Transcription system

从鸟类成髓细胞性白血病病毒纯化得到，催化以 DNA、RNA 或 RNA:DNA 杂交体为模板的 DNA 聚合反应。它需要引物（DNA 引物比 RNA 引物效率更高）以及 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 。该酶具有内在的 RNase H 活性，非离子表面活性剂和氢硫根化合物可在体外增加该酶的活性。

[中文简要操作指导请点击此处获取](#)

» M-MLV Reverse Transcriptase

M-MLV 的 pol 基因克隆产物，由一个分子量为 71kDa 的亚单位组成。是 RNA 依赖的 DNA 聚合酶，具有反转录酶活性，DNA 聚合酶活性，RNase H 酶活性（弱于 AMV）。M-MLV 反转录酶的 RNase H 活性比常用的 AMV 反转录酶弱。

[中文简要操作指导请点击此处获取](#)

» M-MLV Reverse Transcriptase, RNase H Minus

M-MLV 反转录酶 RNase H 缺失是 RNA 依赖的 DNA 聚合酶，为 M-MLV 反转录酶的一种类型，已经经过基因改造，去除了 RNase H 的活性，为长 cDNA 的制备及包含高比例全长 cDNA 的文库制备提供了更好的选择。

产品	规格	目录号
AMV Reverse Transcription system	100 reactions	A3500
AMV Reverse Transcriptase	300u	M5101
	1,000u	M5108
	600u	M9004

- 可高效反转录带有高度二级结构的模板。
- 反应温度范围为 42℃ ~58℃，最大活性温度为 50℃。

产品	规格	目录号
M-MLV Reverse Transcriptase	10,000u	M1701
	50,000u	M1705

- 可用于长 mRNA (>5kb) 为模板的 cDNA 合成。
- 最佳反应温度为，37℃。

产品	规格	目录号
M-MLV Reverse Transcriptase, RNase H Minus	10,000u	M5301

- 制备长片段 cDNA 和高含量全长 cDNA 的文库。
- 最佳反应温度可高达 50℃。



» M-MLV Reverse Transcriptase, RNase H Minus, Point Mutant

点突变型 M-MLV 反转录酶，RNase H 缺失是 RNA 依赖的 DNA 聚合酶，RNase H 活性的缺失有利于其应用，因为在长孵育时间的时候，RNase H 会开始降解模板，因此缺失了 RNase H 活性的反转录酶为长 cDNA 的制备及包含高比例全长 cDNA 的文库制备提供了更好的选择。

产品	规格	目录号
M-MLV Reverse Transcriptase, RNase H Minus, Point Mutant	2,500u	M3681
	10,000u	M3682
	50,000u	M3683

- 可用于长 mRNA (>5kb) 为模板的 cDNA 合成。

» ImProm-II™ Reverse Transcription System

ImProm-II™ Reverse Transcription (ImProm-II™ 反转录酶) 具有较强的全长 cDNA 合成能力，可用于低丰度或较长的信使 RNA 的分析，并具有良好的重复性。ImProm-II™ 反转录酶可用于以总 RNA、poly(A)+ mRNA 或合成的转录本 RNA 为模板进行反转录。此系列产品包括完整的反转录试剂盒 (A3800) 和独立的反转录酶，满足您的实验需要。

产品	规格	目录号
ImProm-II™ Reverse Transcription System	100 reactions	A3800
	10 reactions	A3801
ImProm-II™ Reverse Transcriptase	100 reactions	A3802
	500 reactions	A3803

- 可反转录长达 8.9kb 的 RNA 模板。
- 最佳反应温度：37℃ –42℃ (up to 55℃)。



RNA 纯化相关产品

方法学	样本类型	产品	规格	目录号
独特柱膜技术 纯度更高	组织	ReliaPrep™ RNA Tissue Miniprep System	50 preps	Z6111
			250 preps	Z6112
	细胞	ReliaPrep™ RNA Cell Miniprep System	10 preps	Z6010
			50 preps	Z6011
			250 preps	Z6012
	福尔马林固定和石蜡包埋组织	ReliaPrep™ FFPE Total RNA Miniprep System	10 reactions	Z1001
			100 reactions	Z1002
硅质膜柱膜技术 适用样品范围广	组织, 细胞 细菌, 酵母 植物, 全血 血浆, 血清	SV Total RNA Isolation System	10 preps	Z3101
			50 preps	Z3100
			250 preps	Z3105
		SV Total RNA Isolation Start-Up Kit, 220V Electrical (250 preps, manifold and free vacuum pump)	250preps	Z3382
	组织, 细胞 细菌, 植物	Eastep™ Super 总 RNA 提取试剂盒 (Eastep™ Super Total RNA Extraction Kit)	50preps	LS1040

Eastep™ Super 总 RNA 提取试剂盒简介

为 Promega 上海生产基地 - 上海普洛麦格生物产品有限公司生产研发的最新 RNA 纯化试剂盒，采用优质硅基质膜离心柱，能够更快地从多种样本中小量提取总 RNA。无需有毒溶剂处理，RNA 产物纯度更高、更完整。

特点：

- **纯度高：**采用硅基质膜离心柱，与传统的溶剂法相比，提取产物纯度更高，更完整。
- **操作快速简单：**步骤更少，单个样品提取纯化一般可在 30 分钟内完成。
- **适用于多种样本：**可提取多种动物组织，植物组织，培养细胞，细菌，等样本的 RNA。
- **无需使用苯酚、氯仿等有害物质：**独特的细胞裂解系统。
- **杂质残留污染更少：**DNA 酶处理去除基因组 DNA 污染，影响下游应用酶反应的杂质残留更少。
- **裂解液可以保存样品：**可将样品保存在裂解液中冻于 -70℃，减少 RNA 的降解

不同材料提取 RNA 的得率：

样品种类	样品名称	RNA 收获 (µg/mg)	A260 A230	A260 A280
动物组织	小鼠肝脏	3.0-5.5	2.0-2.5	1.9-2.1
	小鼠肾脏	1.5-3.0	2.0-2.5	1.9-2.1
	小鼠脾脏	1.5-3.5	2.1-2.6	1.9-2.1
	小鼠心脏	0.4-1.0	2.0-2.6	1.9-2.1
	小鼠肺	0.6-1.2	2.2-3.0	1.9-2.1
	小鼠脑	0.4-0.8	2.1-2.7	1.9-2.1
植物组织	蕃茄叶子	1.0-2.0	2.1-2.6	1.9-2.2
细胞	293T (1x10 ⁶)	8-12	2.0-2.3	1.9-2.1
	Hela (1x10 ⁶)	40	2.0-2.3	1.9-2.1
细菌	E.coli (1x10 ⁹)	30-50	2.2-2.6	1.9-2.1

染料法 qPCR 相关产品

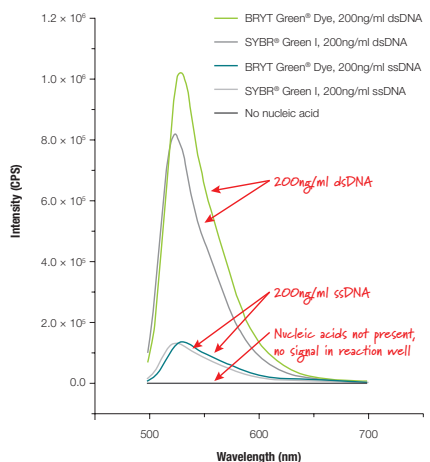
BRYT Green® Dye ——专利双链 DNA 结合染料——荧光更强

Promega 的染料法 Go Taq® qPCR 系统中均采用专利荧光染料 BRYT Green® Dye

相比于 SYBR® Green I. 这种新型荧光 DNA 结合染料对 qPCR 反应没有抑制作用，与双链 DNA (dsDNA) 结合后，荧光信号更强。



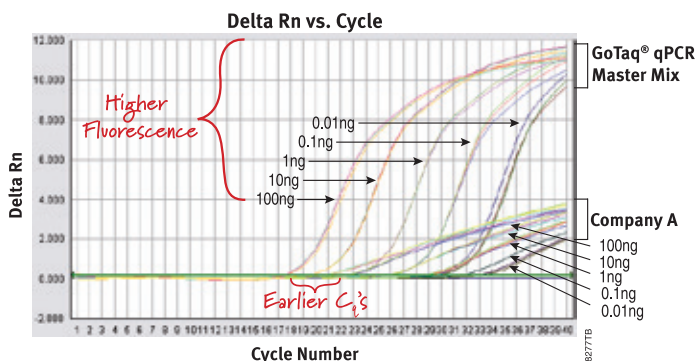
- 荧光信号更强。
- 灵敏度更高，适用于低拷贝检测。
- Ct 值出现更早。
- 与 SYBR® Green I 采用完全相同的仪器设置，兼容所有能使用 SYBR® Green I 的仪器。



• Cq 值出现更早

	Promega	Vendor L		Promega	Vendor L
RANBP2L1	21.63	23.81	TTC1	25.91	27.16
IGL2	22.15	23.73	SERPIND1	26	28.19
TMSB4X	22.3	24.29	βACTIN	22.91	23.29
GAPDH	22.66	24.44	CD8B1	24.15	24.53
IGL3	22.72	24.21	SON	24.22	24.99
GLUD1	23.27	25.15	ITGB5	25.53	25.95
CCL18	23.77	27.6	AMPD2	26.14	26.43
DDX42	24.08	25.89	CDC20	28.02	28.12
VIL2	24.38	26.14	UBE1	28.87	28.02
BTN3A3	24.8	26.19	IFI30	37.55	37.17
MVP	24.87	27.75	BCL3	29.16	28.07
ETS-2	25.2	27.89	ABCA 3	31.28	29.85
CDC2L5	25.21	27.06	EBAF	33.41	29.24

• 更加灵敏



上图：用 GoTaq® qPCR Master Mix 和 L 公司的染料法 qPCR 预混液以 1ng 人类基因组 DNA 为模板扩增 26 个目的基因。在检测的 26 个目的基因中，GoTaq® qPCR Master Mix 实验组中有 20 个基因的 Ct 值比其它品牌出现更早，灵敏度更高。绿色 = GoTaq® qPCR Master Mix 早于 L 公司 1 个以上 Ct 值。

上图：5 个连续 10 倍梯度稀释人类基因组 DNA 模板采用 GoTaq® qPCR Master Mix 和供应商 L 的同类试剂检测 GAPDH 表达。对于不同浓度的模板，GoTaq® qPCR Master Mix 实验组荧光信号更强，Ct 值更小。

方法学	产品	规格	反应次数	目录号
染料法 qPCR 预混液	GoTaq® qPCR Master Mix	5ml	50μl 反应体系 - 200 次 20μl 反应体系 - 500 次 10μl 反应体系 - 1000 次	A6001
		25ml	50μl 反应体系 - 1000 次 20μl 反应体系 - 2500 次 10μl 反应体系 - 5000 次	A6002
染料法 RT-qPCR 系统	GoTaq® 1-Step RT-qPCR System	5ml	20μl 反应体系 - 500 次	A6020
	GoTaq® 2-Step RT-qPCR System	5ml	500 × 20μl qPCR 反应体系 500 次 & 20μl RT 反应体系 50 次	A6010

探针法 qPCR 相关产品

高灵敏度，宽线性范围的水解探针法试剂

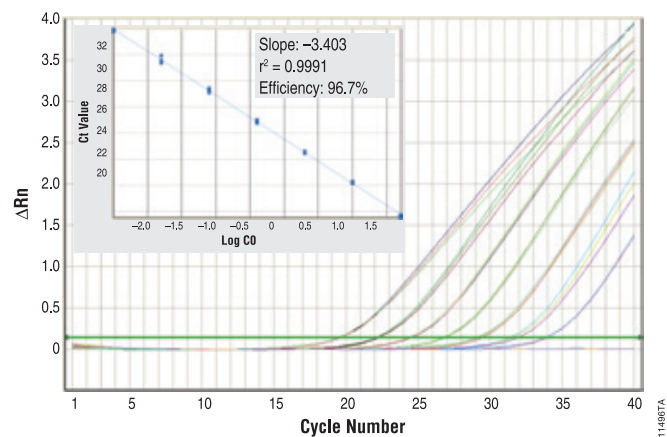
水解探针法是最经典的探针法荧光定量 PCR。原理基于探针 5' 端标记报告荧光基团，3' 端标记淬灭基团。探针完整时报告基因与淬灭基团距离很近，报告基团发出的荧光信号会被淬灭基团吸收。在 qPCR 扩增时，Taq 酶会降解探针，报告基团与淬灭基团分离，报告基团的荧光信号被检测到。



方法学	产品	规格	反应次数	目录号
探针法 qPCR 预混液	GoTaq® Probe qPCR Master Mix	2ml	50µl 反应体系 - 80 次 20µl 反应体系 - 200 次 10µl 反应体系 - 400 次	A6101
		10ml	50µl 反应体系 - 400 次 20µl 反应体系 - 1000 次 10µl 反应体系 - 2000 次	A6102
探针法 RT-qPCR 系统	GoTaq® Probe 1-Step RT-qPCR System	2ml	20µl 反应体系 - 200 次	A6120
		12.5ml	20µl 反应体系 - 1250 次	A6121
	GoTaq® Probe 2-Step RT-qPCR System	2ml	20µl 反应体系 - 200 次	A6110

GoTaq® Probe qPCR 和 RT-qPCR Systems 是即用型 2X 预混液，使水解探针法反应体系的配制更为简单。此实时定量 qPCR 系统在 PCR 抑制剂存在的情况下可对很宽范围内的 DNA 或 RNA 靶标进行灵敏可定量的检测。

快速热启动进行性酶使 GoTaq® Probe qPCR 和 RT-qPCR Systems 可以兼容大多数使用标准或快速循环的实时定量 PCR 仪。由于其反应体系可在室温下配制，因此可兼容自动化和高通量检测模式。



上图：提取心脏组织 RNA，应用 GoScript™ Reverse Transcription System 合成 cDNA，GoTaq® Probe Master Mix 扩增 GAPDH 基因。引物和探针的终浓度为 1µM 和 0.34µM。5 倍浓度梯度稀释 cDNA(100ng-6.4pg)。

终点法 PCR 相关产品

GoTaq® G2 聚合酶是 GoTaq® 第二代产品。产品有多种配方，可提供最大限度的灵活性、可控性以及方便性。GoTaq® G2 DNA Polymerase 和 Flexi DNA Polymerase 是全长 Taq DNA 聚合酶，具有 5' → 3' 核酸外切酶活性，酶储存液中含有 50% 甘油及专利配方缓冲液，可有效提高扩增效率。常规 PCR 可单独选择酶和缓冲液系统（含有或不含镁离子）。



- **GoTaq® G2 DNA Polymerase** 提供 5X 绿色 GoTaq® 反应缓冲液和 5X 的 GoTaq® 无色反应缓冲液。这两个缓冲液都含有浓度为 7.5mM 的氯化镁，1X 反应液终浓度为 1.5mM。
- **GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase** 同时提供 5X 绿色 GoTaq® Flexi 缓冲液或 5X 无色的 GoTaq® Flexi 缓冲液，两种缓冲液均不含有 Mg^{2+} ，提供 25mM 氯化镁。
- **GoTaq® G2 Green 和 Colorless Master Mix** 是即用型，2X PCR 预混液，含有第二代 GoTaq® G2 DNA Polymerase 和其他进行 PCR 反应的所有必需组分。仅需加入模板，引物即可进行反应。分为绿色和无色的两种预混液。
- **5X 绿色 GoTaq® 反应缓冲液和 Flexi 缓冲液** 包含两种染料（蓝色和黄色），在电泳过程中被分离，以方便监控电泳过程。无色缓冲液可用于直接荧光或吸光度读数，无需事先纯化 PCR 产物。

	产品	规格	目录号
Taq 酶	GoTaq® G2 DNA Polymerase	100u	M7841
		500u	M7845
		2,500u	M7848
	GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase	100u	M7801
		500u	M7805
		2,500u	M7806
		10,000u	M7808
PCR 预混液	GoTaq® G2 Green Master Mix	100 rxns	M7822
		1000 rxns	M7823
	GoTaq® G2 Colorless Master Mix	100 rxns	M7832
		1000 rxns	M7833



欢迎关注 Promega 官方微信

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268

网址：www.promega.com

技术支持电话：800 810 8133(座机拨打)，400 810 8133(手机拨打)

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

印刷时间：2019.6