

快速去基因组逆转录预混液

All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)

货号: HKR041

【产品信息】

产品名称	产品货号	规格	有效期
快速去基因组逆转录预混液 All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)	HKR041	100x	12 个月

【产品简介】

快速去基因组逆转录预混液 (All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)) 是一款高效、便捷、减少污染的高质量一链 cDNA 合成试剂盒, 包含 M-MLV GIII Reverse Transcriptase 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs, Oligo(dT)20VN 和随机引物等一链 cDNA 合成所需的所有组分, 仅需加入 RNA 模板和水即可开始反应。使用该逆转录试剂盒获得的 cDNA, 下游可用于 qPCR、普通 PCR 等实验。

RNA 中存在基因组 DNA 污染, 如果反转录前不做去除处理, 下游进行 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时进行扩增, 尤其是引物设计在同一外显子上时。本试剂盒采用 dsDNase 高效去除基因组 DNA 污染, 区别于常规的 DNase I, dsDNase 能够特异性的消化双链 DNA (dsDNA 以及 DNA 与 RNA 的杂合链), 并且具有热敏感性, 可在高温条件下快速不可逆地失活。与传统使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染的方法相比, dsDNase 无需额外加入 EDTA 进行失活, 不仅节省实验时间, 而且降低了对逆转录反应的抑制。All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase) 作为升级后的一链 cDNA 合成试剂盒, 15 分钟内最长可获得 12 kb cDNA。可依据基因组污染严重程度选择采用去基因组 DNA 污染与反转录分开进行的操作方法, 或者去基因组污染与反转录一步法进行的操作方法。

【产品组成】

货号	产品名称	规格
HKR041-A	All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	400 μ L
HKR041-B	dsDNase	2 \times 50 μ L
HKR041-C	10 \times dsDNase Buffffer	200 μ L
HKR041-D	Nuclease-Free Water	2 \times 1 mL

【储存与运输】

冰袋 (wet ice) 运输；-20 $^{\circ}$ C 保存，有效期 12 个月。

【使用方法】

基因组含量低的 RNA 样品（推荐方案）

① 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
模板 RNA ^a	50 ng~1 μ g
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 μ L
dsDNase	1 μ L
Nuclease-Free Water	To 20 μ L

a: 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

- ② 轻柔吸打混匀，瞬离；
- ③ 37 $^{\circ}$ C 温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；
- ④ 55 $^{\circ}$ C 温育 15 min；
- ⑤ 反应结束后，85 $^{\circ}$ C 温育 5 min 以终止反应；
- ⑥ 迅速将获得的 cDNA 置于冰上，用于后续实验；或立即保存于 -20 $^{\circ}$ C。

基因组含量高 RNA 样品（推荐方案）

1. 基因组 DNA 污染去除

① 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
模板 RNA ^a	50 ng~1 µg
dsDNase	1 µL
10×dsDNaseBuffer	1 µL
Nuclease-Free Water	To 10 µL

a: 推荐采用试剂盒提取的 RNA 作为模板。

② 轻柔吸打混匀，瞬离；

③ 37℃温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；（注：若 RNA 中基因组 DNA 污染严重，可适当延长 37℃温育时间至 5 min。）

④ 65℃温育 2 min，使 dsDNase 失活，冰上放置。

2. 第一链 cDNA 合成

① 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量（实验组）
“实验 1”反应产物	10 µL
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 µL
Nuclease-Free Water	To 20 µL

② 轻柔吸打混匀，瞬离；

③ 50℃温育 15 min；（注：若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构，可预先 25℃温育 10 min。）

④ 反应结束后，85℃温育 5 min，以终止反应；

⑤ 将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验。（注：cDNA 溶液置于 -20℃ 储存，建议不超过 1 周；）

【注意事项】

1. 预混液中已经包含 Oligo(dT)20VN 和随机引物，不仅适用于包含 Poly(A) 结构的真核生物 mRNA，也适用于不含 Poly(A) 结构的原核生物 RNA、真核生物 rRNA 和 tRNA 等模板，但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板。

2. 本试剂仅用于科研。

