

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

### 一步法逆转录试剂盒 (with dsDNase) 产品说明书

REF: GXRT003

#### 产品组成

组分	规格
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	400 $\mu$ l
dsDNase	2×50 $\mu$ l
10× dsDNase Buffer	200 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	2×1 ml

#### 产品简介

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，包含热稳定的 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 主要用于下游 qPCR 实验。

从细胞中提取的 RNA 往往存在基因组 DNA 污染，如果逆转录前不将其去除，下游 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时被扩增（尤其当引物设计在同一外显子上时），从而影响基因表达定量准确性。本试剂盒采用 dsDNase 高效去除基因组 DNA 污染，dsDNase 能够特异性消化双链 DNA (dsDNA 或 DNA-RNA 杂合链中的 DNA 链)，并且具有热敏感性，在逆转录温度下即可快速不可逆地失活。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。

可依据基因组污染严重程度选择采用去基因组 DNA 污染与逆转录分开进行的操作方法，或者去基因组污染与逆转录一步法进行的操作方法。

#### 使用方法

##### 1. 针对基因组 DNA 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 <sup>a</sup>	50 ng~1 $\mu$ g
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 $\mu$ l
dsDNase	1 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ 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°C温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；

- ④ 55°C温育 15 min;
- ⑤ 反应结束后, 85°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°C。

## 2. 针对基因组 DNA 含量高的 RNA 样品

### (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 <sup>a</sup>	50 ng~1 µg
dsDNase	1 µl
10× dsDNase Buffer	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°C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°C温育时间至 5 min。**

- ④ 65°C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°C温育 15 min;
- 注: 若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构, 可预先 25°C温育 10 min。**
- ④ 反应结束后, 85°C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°C储存, 建议不超过 1 周; 置于 -80°C可长期储存。**

**储运条件:** -20°C

## 注意事项

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。

由于随机引物会在 RNA 任意位置开始逆转录, 因此不建议使用本产品进行真核生物全长 cDNA 克隆。如需获得真核生物的全长 cDNA, 建议使用 RTase III Primer Flexible All-in-One Mix (with dsDNase)。

官方网址: [www.genesion.com.cn](http://www.genesion.com.cn)

公司邮箱: [GenXion@vip.qq.com](mailto:GenXion@vip.qq.com)

订货热线: 4006-169-114、020-84224925

