

服务热线:400-6169-114 020-84224925 网站:www.gensexion.com.cn Email:whiga22@126.com

All-in-One First-Strand Synthesis

一步法逆转录试剂盒 (with dsDNase)

REF: GXRT003

储运条件: -20°C

产品组成

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

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, 采用去基因组 DNA 污染与反转录分开进行的操作方法, 有效保证对 RNA 水平的精确定量。

使用方法

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 μ g
dsDNase	1 μ l
10 \times dsDNase Buffer	1 μ l
Nuclease-Free Water	To 10 μ l

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 μ l
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 μ l
Nuclease-Free Water	To 20 μ l

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。

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。