

All-in-One First-Strand Synthesis Mix 说明书

【产品简介】

All-in-One First-Strand Synthesis Mix 是一款即用型逆转录试剂盒，其包含了第一链 cDNA 合成与基因组 DNA (gDNA) 去除功能。该试剂盒包含第一链 cDNA 合成所需全部组分（热稳定 MMLV 逆转录酶、缓冲液、RNA 酶抑制剂、dNTPs、Oligo(dT)20VN 及随机引物），并采用了 dsDNase 技术来解决 RNA 样本中常见的 gDNA 污染问题。若 gDNA 未被去除，在后续 qPCR 中会与 cDNA 发生共扩增，影响基因表达定量的准确性。本产品所用的 dsDNase 能特异性消化双链 DNA（包括 dsDNA 及 DNA-RNA 杂合链中的 DNA 链），且具有热敏感性，在后续逆转录反应温度下可快速、不可逆地失活。用户可根据起始 RNA 中 gDNA 的污染程度，灵活选择“先去除 gDNA 后逆转录”的两步法，或“去除 gDNA 与逆转录同时进行”的一步法进行操作。

【产品组成】

货号	产品组成	规格
M501S	All-in-One First-Strand Synthesis Mix	400μL
	dsDNase	2×50μL
	10×dsDNase	200μL
	Nuclease-Free Water	2×1mL

【使用方法】

1. 一步法

当 RNA 质量较高，或反应中 RNA 拷贝数较高、目标基因拷贝数较高时，可将去除基因组 DNA 与反转录合为一步操作。

1.1 按下表配制反应体系。

组分	添加量
All-in-One First-Strand Synthesis Mix	4μL
dsDNase	1μL
RNA Template	50ng~1μg
Nuclease-Free Water	加水至20μL

1.2 用移液器轻柔吸打混匀、瞬离。

1.3 37°C温育 2min，以去除基因组 DNA 污染。

1.4 55°C温育 15min。

1.5 反应结束后，85°C温育 5min 以中止反应。

1.6 反应产物需立即用于后续 qPCR 反应，可暂放于 4°C或冰上；如需长期保存建议放置于 -20°C及更低温度保存。

2. 两步法

若提取的 RNA 中 gDNA 含量很高，或者对 gDNA 消除效果要求很高。

2.1 基因组 DNA 污染去除

2.1.1 按下表配制反应体系。

组分	添加量
10×dsDNase	1μL
dsDNase	1μL
RNA Template	50ng~1μg
Nuclease-Free Water	加水至10μL

2.1.2 用移液器轻柔吸打混匀、瞬离。

2.1.3 37°C温育 2min，以去除基因组 DNA 污染，若基因组 DNA 污染严重，可适当延长 37°C 温育时间至 5min。

2.1.4 65°C温育 2min，使 dsDNA 失活，冰上放置待用。

2.2 第一链 cDNA 合成

2.2.1 按下表配制反应体系。

组分	添加量
All-in-One First-Strand Synthesis Mix	4μL
“实验 2.1” 中的反应产物	10μL
Nuclease-Free Water	加水至20μL

2.2.2 用移液器轻柔吸打混匀、瞬离。

2.2.3 55°C温育 15min。若目标 RNA 不含 Poly A 结构，可预先 25°C温育 10min。

2.2.4 反应结束后，85°C温育 5min 以中止反应。

2.2.5 反应产物需立即用于后续 qPCR 反应，可暂放于 4°C或冰上；如需长期保存建议放置于-20°C及更低温度保存。

【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。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。

【储存条件】

该试剂可在-30 ~ -15°C下避光保存 2 年，≤0°C运输。

【联系信息】



上海科驰皓生物科技有限公司
Shanghai Scicoho Biotech. Co., Ltd.
公司地址：上海浦东新区宣秋路 139 号 1 号楼 621 室