



All-in-one First Strand cDNA Synthesis Kit II (with dsDNase)

货号：SM134-01/02 规格：50T/100T 运输条件：低温运输。

产品简介

Seven All-in-one First Strand cDNA Synthesis Kit II(with dsDNase) 是一款高效、便捷、可有效减少污染的高质量第一链 cDNA 合成试剂盒，包含 M-MLV Reverse Transcriptase 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs、Oligo dT 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 可用于 qPCR、普通 PCR 等实验。

RNA 中存在基因组 DNA 污染，如果逆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。使用本产品 15 分钟内最长可获得 12kb 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。

产品组成

产品货号	产品名称	SM134-01	SM134-02	保存温度
SM134A	5×Master Mix II	200uL	400uL	-20°C
SM134B	dsDNase	50uL	50uL×2	-20°C
SM134C	Nuclease-Free Water	1mL	1mL×2	-20°C

保存条件

-20°C保存，有效期 24 个月。

产品特点

- 1、gDNA 去除能力≥300ng；
- 2、逆转录效率高，第一链 cDNA 产量高；
- 3、一管式预混体系，包含除 RNA 模板以外的所有试剂，方便使用；
- 4、逆转录反应的模板总 RNA 范围可以在 50ng~1ug 之间，15 分钟内可合 12kb 的 cDNA 片段。

使用方法

gDNA 含量较低的 RNA 样品（一步法）

(1) 于冰上进行反应体系配制；

试剂	体积	添加量
Total RNA/mRNA	Variable	50ng~1ug/5~100ng
5×Master Mix II	4uL	
dsDNase	1uL	
Nuclease-Free Water	To 20uL	

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途
技术支持电话：400-010-4888 版本号 25AM



试剂专家



微信公众号

- (2) 轻柔吸打混匀，瞬离；
- (3) 42°C温育 10~20min（后续实验为普通 PCR，可将逆转录合成温度增加到 55°C，并适当延长合成时间，以获得更高的逆转录效率）；
- (4) 85°C温育 5s 终止反应；
- (5) 该产物可直接用于第二链的合成或 qPCR 扩增反应，请置于-20°C保存。

gDNA 含量较高的 RNA 样品（两步法）

- (1) 于冰上进行反应体系配制；

试剂	体积	添加量
Total RNA/mRNA	Variable	50ng~1ug/5~100ng
5×Master Mix II	4uL	
dsDNase	1uL	
Nuclease-Free Water	To 20uL	

- (2) 轻柔吸打混匀，瞬离；
- (3) 37°C温育 2min，以去除基因组 DNA 污染；
- (4) 42°C温育 10~20min（后续实验为普通 PCR，可将逆转录合成温度增加到 55°C，并适当延长合成时间，以获得更高的逆转录效率）；
- (5) 反应结束后，85°C温育 5s 以终止反应；
- (6) 该产物可直接用于第二链的合成或 qPCR 扩增反应，-20°C保存。

注意事项

- 1、为保证逆转录成功建议使用高质量的 RNA 样品；
- 2、5×Master Mix II 比较粘稠，容易吸附于管壁、吸头导致损失，请离心后再使用，并且尽量避免吸头外壁粘附损失；
- 3、若后续实验为普通 PCR，可将逆转录合成温度增加到 55°C，并适当延长合成时间，以获得更高的逆转录效率；此外需要将 PCR 第一步 95°C预变性延长至 5min 使逆转录酶完全失活，否则可能会抑制 PCR 扩增过程；
- 4、预混液中已经包含 Oligo(dT)20VN 和随机引物，适用于包含 Poly(A)结构的真核生物 mRNA 和不含 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。

