

All-in-One 1st cDNA Synthesis MasterMix (with dsDNase) 使用说明书

Cat #RT001



www.affinibody.com
Swiss Affinibody LifeScience

Version 2.2 V

目录 Contents

01 产品概述	02
02 产品组分	02
03 储存条件	02
04 适用范围	02
05 使用流程	02
05-1 样品中基因组DNA含量高	02
05-1 样品中不含或含少量基因组	03
06 注意事项	04

01 产品概述

All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)是一款适用于合成高质量第一链cDNA的试剂盒，快速，稳定，高效，15 min内即可获得最长12 kb cDNA，后续可用于qPCR以及PCR克隆等实验。All-in-One MasterMix中包含反转录所需的多种组分，如经过优化的Buffer体系，M-MLV GIII Reverse Transcriptase，dNTPs，RNase inhibitor，Random Primer，dsDNase和Oligo(dT)₂₀，只需加入模板RNA以及水，即可高效合成第一链cDNA，操作简便，反应快速。

试剂盒中含dsDNase，能够特异性消化双链DNA，有效去除基因组DNA污染，可通过高温使其不可逆地失活，无需额外加入EDTA。该酶相比于传统的DNase I，具有更好的特异性，不引起RNA的非特异降解，大幅提升实验效率，降低操作过程中的污染机率，效果极佳。

02 产品组分

组分	规格
All-in-One MasterMix	400 μL
dsDNase	50 μL
10×dsDNase Buffer	200 μL
Nuclease-Free Water	2×1 mL

 预混液中已含dNTPs，RNase inhibitor和Oligo(dT)₂₀

03 储存条件

-25°C - 15°C 保存。运输温度：≤0 °C。

04 适用范围

本试剂盒适用于动物，植物以及微生物RNA的逆转录反应。

05 使用流程

05-1 样品中基因组DNA含量高

去除基因组DNA

① 将RNase free的管置于冰上，配制以下反应体系 (10 μ L):

组分	使用量
Nuclease-Free H ₂ O	To 10 μ L
dsDNase	1 μ L
10 \times dsDNase Buffer	1 μ L
Total RNA	50 ng-1 μ g

 使用前将每种溶液轻弹或者轻微涡旋振荡混匀，简短离心以收集残留在管壁的液体到管底。

② 移液器轻轻吹打混匀，37 $^{\circ}$ C孵育2 min；若样品污染严重，可适当延长至5 min；

③ 65 $^{\circ}$ C孵育2 min，然后置于冰上。

合成第一链cDNA

① 另取RNase free的管置于冰上，配制以下反应体系 (10 μ L):

组分	使用量
上一步的反应产物	10 μ L
All-in-One MasterMix	4 μ L
Nuclease-Free H ₂ O	To 20 μ L

② 移液器轻轻吹打混匀，50 $^{\circ}$ C孵育15 min；

③ 85 $^{\circ}$ C孵育5 min，使反转录酶失活，终止反应。

④ 反应完成后，请将cDNA置于冰上，等待进行下游PCR反应。

 a. 若RNA模版不含Poly(A)，混合此步体系后，可先在25 $^{\circ}$ C孵育10 min，然后在50 $^{\circ}$ C孵育15 min，85 $^{\circ}$ C孵育5 min以终止反应；

b. 如果RNA模版含有复杂结构或高GC区域，可将反应温度从50 $^{\circ}$ C提升为55 $^{\circ}$ C，从而提高产量；

b. cDNA需储存于-20 $^{\circ}$ C，长期储存请分装后，置于-80 $^{\circ}$ C，避免反复冻融；

05-2 样品中不含或含少量基因组

合成第一链cDNA

① 将RNase free的管置于冰上，配制以下反应体系 (10 μ L):

组分	使用量
Nuclease-Free H ₂ O	To 20 μ L
dsDNase	1 μ L
All-in-One MasterMix	4 μ L
Total RNA	50 ng-1 μ g

② 移液器轻轻吹打混匀，37°C孵育2 min，去除基因组污染；

③ 55°C孵育15 min；

④ 85°C孵育5 min，使反转录酶失活，终止反应。

05 注意事项

1. 操作过程中，请佩戴一次性干净手套，并使用 RNA 操作专用实验台，避免讲话，从而防止实验者的汗液和唾液中的RNA分解酶的污染，对实验产生影响；
2. 建议将RNA实验所用的器具及试剂单独存放，避免混用后交叉污染。器具使用前应进行干热灭菌（180°C，60 min）或使用DEPC水处理再高压灭菌。或者使用RNA实验专用的一次性器皿；
3. 在提取RNA后，建议对RNA模版的纯度和质量进行检测，以免影响cDNA合成量；
4. Random Primer能够在mRNA全长范围内进行高效率反转录，适用性广；如果模版为真核来源，建议使用Oligo dT Primer，从Poly (A) 尾开始反转录反应，但如果目的片段与Poly (A) 之间距离太远，反转录效率将会降低；
5. 本产品仅限科研使用。



Swiss Affinibody LifeScience AG

网址: www.affinibody.com

邮箱: info@affinibody.com

电话: +41(0)763290285 +86 15902760422

