

# 产品说明书

**产品名称: First Strand cDNA Synthesis Kit with DNase (All-in-One)**

货号: A1002 产品规格: 20T, 100T

产品内容:

组分	20T	100T
5× All-in-One Mix	80 μL	2×200 μL
DNase	20 μL	100 μL
RNase-free water	400 μL	2×1 mL

\* 5× All-in-One Mix 包含: 逆转录酶, RNA 酶抑制剂, dNTPs, buffer, Oligo(dT)<sub>20</sub>VN 和随机引物。

储存于-20°C

RNase-free water	加至 20 μL
------------------	----------

## 产品介绍

First Strand cDNA Synthesis Kit with DNase (All-in-One) 是将 RNA 合成 cDNA 的一个操作更为简便的系统, 含有第一链 cDNA 合成所需的全部试剂, 仅需加入 RNA 模板和水即可进行逆转录反应, 操作非常方便。使用该逆转录预混液 15 分钟内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA。合成的 cDNA 推荐用于 qPCR 反应。

该预混液采用特制的高效 DNase, 该酶具有热敏感性, 可在高温条件下快速不可逆地失活, 因此仅需一次加样, 即可同管进行去除基因组 DNA 污染与逆转录反应, 与使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染相比, 无需额外加入 EDTA 进行失活, 不仅减少了对 RNA 模板的损伤、降低 RNase 污染风险, 而且节省实验时间。

## 使用方法

1. 在冰浴的无核酸酶的离心管中配制下列逆转录体系:

组分	体积
5× RT All-in-One Mix	4 μL
DNase	1 μL
模板 RNA	50 ng - 1 μg

注: 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

- 轻轻混匀, 瞬时离心 (使液体沉于底部);
- 在 PCR 仪上进行下列条件的反应:
  - 37°C 温育 2 min, 以去除基因组 DNA 污染;
  - 55°C, 温育 15 min;
  - 85°C, 孵育 5 min, 以终止反应
- 将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于-20°C, 用于后续实验。

### \*\*\*\*

- RNA 模板的纯度和完整性是影响逆转录效果的重要因素, 如模板中含有蛋白、EDTA、酚等杂质会使 RNA 降解。
- 若后续实验为 qPCR, 逆转录产物的加量应不超过 PCR 体系终体积的 1/10, 如 20 μL 的 PCR 反应体系, 逆转录产物的加量应不超过 2 μL。
- 预混液中已经包含 Oligo(dT)<sub>20</sub>VN 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。