



All-in-One RT MasterMix (with dsDNase)

产品描述

All-in-One RT MasterMix (with dsDNase)是一款高效、便捷且高质量的单链 cDNA 合成试剂盒, 包含热稳定的 M-MLV GIII 逆转录酶及其反应缓冲液、RNA 酶抑制剂、dNTPs、Oligo(dT)20VN 和随机引物等所有逆转录反应所需组分, 仅需添加 RNA 模板和水即可启动反应, 生成的 cDNA 主要用于后续的 qPCR 分析。

提取的 RNA 样本常存在基因组 DNA (gDNA) 污染, 可能导致 gDNA 与 cDNA 在 qPCR 中同时扩增, 影响定量准确性。本试剂盒通过 dsDNase 高效去除 gDNA, 特异性降解双链 DNA 或 DNA-RNA 杂合链中的 DNA 链, 并在逆转录温度下快速不可逆失活。与传统使用的 DNase I 对比, 无需额外 EDTA 处理, 简化实验流程, 降低逆转录反应的抑制风险。

本试剂盒可在同一管中进行逆转录和 gDNA 去除两个反应, 操作简便, 可有效降低复杂加样过程造成的样品污染和 RNA 降解的风险。但若基因组污染严重程度, 建议选择采用去除 gDNA 污染与逆转录分开进行的操作方法。

订购信息

| 产品名称 | 货号 | 规格 |
|--|----------|------|
| All-in-One RT MasterMix (with dsDNase) | AN33L718 | 20T |
| All-in-One RT MasterMix (with dsDNase) | AN33L719 | 100T |

产品组分

| 组分 | AN33L718 (20T) | AN33L719 (100T) |
|-------------------------------|----------------|-----------------|
| A. All-in-One RT MasterMix | 80 μ L | 400 μ L |
| B. dsDNase | 20 μ L | 2*50 μ L |
| C. 10 \times dsDNase Buffer | 40 μ L | 200 μ L |
| D. Nuclease-Free Water | 400 μ L | 2*1 mL |

运输与保存

蓝冰运输。-20 $^{\circ}$ C 保存, 有效期 24 个月。

使用方法

1. 针对基因组 DNA 含量低的 RNA 样品 (推荐方案)

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 |
| All-in-One RT MasterMix | 4 μ L |
| dsDNase | 1 μ L |
| Nuclease-Free Water | To 20 μ L |

a. 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。



- ② 37°C温育 2 min, 以去除 gDNA 污染;
- ③ 55°C温育 15 min;
- ④ 反应结束后, 85°C温育 5 min 以终止反应;
- ⑤ 迅速将获得的 cDNA 置于冰上, 用于后续实验; 或立即保存于 -20°C。

2. 针对基因组 DNA 含量高的 RNA 样品

(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 µg |
| dsDNase | 1 µl |
| 10× dsDNase Buffer | 1 µl |
| Nuclease-Free Water | To 10 µl |

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 µl |
| All-in-One RT MasterMix | 4 µl |
| Nuclease-Free Water | To 20 µl |

- 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

1. 预混液中已包含 Oligo(dT)20VN 和随机引物, 适用于含有 Poly(A) 结构的真核生物 mRNA, 以及不含 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。
2. 由于随机引物会在 RNA 的任意位置启动逆转录, 因此不建议使用本产品进行真核生物全长 cDNA 的克隆。
3. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。