

All-in-One First-Strand SuperMix (with dsDNase)

简介

All-in-One First-Strand SuperMix (with dsDNase)是一款高效、便捷、减少污染的高质量第一链 cDNA 合成试剂盒，包含热稳定的第三代 MMLV 逆转录酶、Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs、Oligo(dT)₂₀VN 和随机引物等第一链 cDNA 合成所需的组分，仅需加入 RNA 模板和水即可开始反应。

本试剂盒含 dsDNase 高效去除基因组 DNA 污染，dsDNase 能够特异性消化 DNA，并且具有热敏感性，在逆转录温度下即可快速不可逆地失活。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。

产品组成

产品编号	MD80101
反应次数(20 µl)	100 次
All-in-One First-Strand SuperMix (with dsDNase)	400 µl
dsDNase	2 × 50 µl
10× dsDNase Buffer	200 µl
Nuclease-Free Water	2 × 1 ml

保存条件

All-in-One First-Strand SuperMix (with dsDNase)冰盒运输，收到产品后请立即保存-20°C 保存，有效期 18 个月。

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，因此本产品不建议进行真核生物全长 cDNA 克隆。如需获得真核生物的全长 cDNA，建议使用 All-in-One cDNA SuperMix B (MD80101B)。

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	50ng~1 µg
All-in-One First-Strand SuperMix (with dsDNase)	4 µl
dsDNase	1 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl

② 轻柔吸打混匀，37°C 温育 2min 消化基因组 DNA。

③ 55°C 温育 15min。

④ 反应结束后，85°C 温育 5min 终止反应。

⑤ 迅速将 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	50 ng~1 µg
dsDNase	1 µl
10× dsDNase Buffer	1 µl
Nuclease-Free Water	To 10 µl

② 吸打混匀，37°C 温育 2~5 min 去除基因组 DNA 污染；

③ 65°C 温育 2min，使 DNase 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 First-Strand SuperMix (with dsDNase)	1 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl

② 轻柔吸打混匀，瞬离，50°C 温育 15min；

注：若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构，可预先 25°C 温育 10 min。

③ 反应结束后，85°C 温育 5min，以终止反应；

④ 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。