

一步法cDNA第一链合成预混试剂(去基因组)

One-step First-Strand cDNA Synthesis Premix (with dsDNase)

本产品需干冰运输；-20℃保存，保质期24个月。

货号规格

货号	规格
MH102	100次

产品内容

组分	规格
First-Strand cDNA Synthesis Premix	400 μL
dsDNase	50 μL×2
10 × dsDNase Buffer	200 μL
Nuclease-Free Water	1 mL×2

产品简介

本产品是一款高效、便捷、稳定，并可去除基因组DNA污染的cDNA第一链合成预混试剂，其核心成分——经分子改造的第三代M-MLV逆转录酶，连同反应缓冲液、RNA酶抑制剂、dNTPs、Oligo(dT)20VN引物和随机引物等反应所需组分全部汇于一管，仅需加入RNA模板和水即可进行反应。使用本产品获得的cDNA，下游可用于qPCR、普通PCR等实验。

此外，本产品配备的 dsDNase 可以高效去除基因组 DNA 污染，相较于常规的 DNase I，dsDNase 能够特异性的消化双链 DNA(包括 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，从而无需额外加入 EDTA 进行失活，不仅节省实验时间，而且避免了 EDTA 对逆转录反应的抑制作用。

操作步骤

针对基因组DNA含量较低的RNA样品(推荐方案)

1. 在冰上配置以下反应体系：

试剂	使用量
模板RNA	50 ng~1 μg
First-Strand cDNA Synthesis Premix	4 μL
dsDNase	1 μL
Nuclease-Free Water	To 20 μL

- 2. 轻柔吸打混匀，瞬时离心；
 - 3. 37℃孵育 2 min，去除基因组 DNA 污染；
 - 4. 55℃孵育 15 min；
 - 5. 85℃孵育 5 min，将反应产物迅速置于冰上，所得的 cDNA 可用于后续实验；或保存于 -20℃。
- 注意：cDNA 溶液保存于 -20℃，建议不超过 1 周；-80℃可长期保存。



针对基因组DNA含量较高的RNA样品

一、去除基因组DNA污染

1. 在冰上配置以下反应体系：

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. 轻柔吸打混匀,瞬时离心；
3. 37°C孵育 2 min,去除基因组 DNA 污染；
注意：若 RNA 中基因组 DNA 污染严重,可 37°C孵育 5 min。
4. 65°C孵育 2 min,并将反应液置于冰上。

二、合成第一链cDNA

5. 在冰上配置以下反应体系：

试剂	使用量
步骤一反应产物	10 µL
First-Strand cDNA Synthesis Premix	4 µL
Nuclease-Free Water	To 20 µL

6. 轻柔吸打混匀,瞬时离心；
7. 50°C温育 15 min；
注意：若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构,建议在本步骤前预先 25°C温育 10 min。
8. 85°C孵育 5 min,将反应产物迅速置于冰上,所得的 cDNA 可用于后续实验；或保存于 -20°C。
注意：cDNA 溶液保存于 -20°C,建议不超过 1 周；-80°C可长期保存。

注意事项

1. 本产品预混液中已经包含 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；
2. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作；
3. 本产品仅限科研使用。

