ShareBio 圣尔生物

All-in-One First-Strand Synthesis Master Mix (with dsDNase)

货号：SB-RT001 （规格： 20 μl*50 次；20 μl*100 次）

储运条件：-20℃

产品组成

组分	规格（50次）	规格（100次）
All-in-One First-Strand Synthesis Master Mix	200 μl	400 μl
dsDNase	50 μl	2 X 50 μl
10× dsDNase Buffer	200 μl	200 μl
Nuclease-Free Water	1 ml	2 X 1 ml

产品简介

All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase) 是一款高效、便捷、减少污染的高质量一链 cDNA 合成试剂盒，包含 M-MLV GIII Reverse Transcriptase 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、 dNTPs, Oligo(dT)$_{20}$VN 和随机引物等一链 cDNA 合成所需的所有组分，仅需加入 RNA 模板和水即可开始反应。使用该逆转录试剂盒获得的 cDNA，下游可用于 qPCR、普通 PCR 等实验。

RNA 中存在基因组 DNA 污染，如果反转录前不做去除处理，下游进行 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时进行扩增，尤其是引物设计在同一外显子上时。本试剂盒采用 dsDNase 高效去除基因组 DNA 污染，区别于常规的 DNase I，dsDNase 能够特异性的消化双链 DNA（dsDNA 以及 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。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。All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase) 作为升级后的一链 cDNA 合成试剂盒，15 分钟内最长可获得 12 kb cDNA，采用去基因组 DNA 污染与反转录分开进行的操作方法，有效保证对 RNA 水平的精确定量。

使用方法

一、一步法反转录

①于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量（实验组）
模板 RNA[a]	50 ng~1 μg
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 μl
dsDNase	1 μl
10× dsDNase Buffer	2 μl
Nuclease-Free Water	To 20 μl

②. 轻柔吸打混匀，瞬离；
③.37℃温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；
④.55℃温育 15 min
⑤. 终止反应 85℃ 孵育 5 min，
⑥. 将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验。

a. 推荐采用试剂盒提取的 RNA 为模板。

二、二步法反转录

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	100 ng~2 μg
dsDNase	1 μl
10× dsDNase Buffer	1.6 μl
Nuclease-Free Water	To 16 μl

② 轻柔吸打混匀，瞬离；
③37℃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℃温育时间至 5 min。

④ 65℃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	16 μl
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 μl
	To 20 μl

② 轻柔吸打混匀，瞬离；
③ 50℃温育 15 min；
注：若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构，可预先 25℃温育 10 min。
④ 反应结束后， 85℃温育 5 min，以终止反应；
将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验。
注：cDNA 合成后溶液置于 -80 ℃储存。如立即使用-20℃储存不要超过 1 周。

注意事项

预混液中已经包含 Oligo(dT)$_{20}$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。

相关产品推荐

货号	名称	规格
SB-MR009	Trizol 总 RNA 提取试剂盒	100 ml
SB-Q204	Universal qPCR Master Mix	5*1 ml

ShareBio 圣尔生物

For Research Use Only

All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)

REF:SB-RT001 20 μl*50 T;20 μl*100 T

Storage Condition: -20℃

Components

Component	Specification (50T)	Specification (100T)
All-in-One First-Strand Synthesis Master Mix	200 μl	400 μl
dsDNase	50 μl	2 X 50 μl
10× dsDNase Buffer	200 μl	200 μl
Nuclease-Free Water	1 ml	2 X 1 ml

Description

All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase) is a reverse transcription system developed for first-strand cDNA synthesis with added convenience. It contains all the components necessary for first-strand cDNA synthesis, e.g. MonScript™ RTase III, reaction buffer, RNase Inhibitor, dNTPs, Oligo$(dT)_{20}$VN and random primers, and requires only the addition of RNA template and water. MonScript™ RTase III is the 3rd generation reverse transcriptase developed from the M-MLV RTase. It possesses no RNase H activity and has elevated reaction temperature of up to 55℃ , which significantly increased reverse transcription efficiency and resistance to complicated templates, e.g. high GC contents and massive secondary structures. The enzyme provides better specificity and yield and higher chance to obtain full-length cDNA. By using this premix, cDNA of up to 12 kb can be obtained within 15 min that is recommended to be used in downstream qPCR experiments.

High-efficiency dsDNase is used in this premix. This enzyme is heat-labile and can be heat-inactivated rapidly and irreversibly with high temperature. Thus removal of gDNA and reverse transcription reactions are finished in one tube with one experimental set-up. Different from the usually used DNase I, using dsDNase requires no addition of EDTA. This avoids possible damage to the RNA template, reduces the chance of contamination, and saves the experiment time.

Method

First-strand cDNA synthesis

。 Set up the following reaction mix on ice:

Reagent	Volume
Template RNAa	50 ng~1 μg
All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix	4 μl
dsDNase	1 μl
10× dsDNase Buffer	2 μl
Nuclease-Free Water	To 20 μl

a. High-quality RNA templates extracted by a kit is recommended.

② Mix gently and spin briefly.

③ Incubate under 37℃ for 2 min to remove the gDNA contamination.

④ Incubate under 55℃ for 15 min.

⑤ Terminate the reaction by incubate under 85℃ for 5 min.

⑥ Put the cDNA on ice for downstream experiments or store at -20℃ immediately.

Note

The premix contains Oligo$(dT)_{20}$VN and random primers, and is suitable for eukaryotic mRNA with Poly(A), prokaryotic RNA and eukaryotic rRNA/tRNA without Poly(A), but is not suitable for small RNA templates like miRNA.

Related Products

REF	Product Name	Specification
SB-MR009	Trizol 总 RNA 提取试剂盒	100 ml
SB-Q204	Universal qPCR Master Mix	5*1 ml