

## RTIII All-in-One Mix with dsDNase

REF: MR004

### 储运条件

-20°C 保存。

### 产品组成

组分/规格	MR004S-50 Rxns	MR004M-100 Rxns
5× RTIII All-in-One Mix	200 µl	400 µl
dsDNase	50 µl	50 µl×2
10× dsDNase Buffer	100 µl	200 µl
Nuclease-Free Water	1 ml	1 ml×2

### 产品简介

RTIII All-in-One Mix 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，包含三代 M-MLV 逆转录酶及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs, Oligo(dT)20VN 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。RTIII All-in-One Mix 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

#### 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 <sup>a</sup>	50ng~1µg
dsDNase	1 µl
10× dsDNase Buffer	1 µl
Nuclease-Free Water	To 10 µl

a. 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

2. 轻柔吸打混匀后，瞬离；

3. 37°C 温育 2min，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 5min。

4. 65°C 温育 5min，使 dsDNase 失活，冰上放置。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

## 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 $\mu$ l
5 $\times$ RTIII All-in-One Mix	4 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ l

2. 轻柔吸打混匀后, 瞬离;

3. 50 $^{\circ}$ C 温育 15min;

注: 若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构, 可预先 25 $^{\circ}$ C 温育 10 min。

4. 反应结束后, 85 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 可保存半年; 置于 -80 $^{\circ}$ C 可长期储存。

## 针对基因组含量低 RNA 样品

1、于冰上配制如下反应体系:

试剂	使用量
模板 RNA <sup>a</sup>	50ng~1 $\mu$ g
dsDNase	1 $\mu$ l
5 $\times$ RTIII All-in-One Mix	4 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ l

a. 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

2、轻柔吸打混匀, 瞬离;

3、37 $^{\circ}$ C 温育 2 min, 以去除基因组 DNA 污染;

4、55 $^{\circ}$ C 温育 15 min;

5、反应结束后, 85 $^{\circ}$ C 温育 5 min 以终止反应;

6、迅速将获得的 cDNA 置于冰上, 用于后续实验; 或立即保存于 -20 $^{\circ}$ C。

## 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。

警告: 本产品仅限科研实验使用, 临床上的安全性和有效性并未被鉴定, 不适用于医疗临床诊断。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网: <http://www.bio149.com>