

# 产 品 说 明 书

产品名称: All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with dsDNase)

产品货号: XKL0511

产品规格: 100 rxns

## 产品内容

组分	100 rxns
KEIris 5× RT All-in-One Mix	400 μL
dsDNase	2×50 μL
RNase-free water	2×1 mL

\* KEIris 5× RT All-in-One Mix 包含以下组分: 逆转录酶, RNA 酶抑制剂, dNTPs, buffer, Oligo(dT)20VN 和随机引物。

## 储存条件

储存于-20 °C, 有效期一年。

## 产品介绍

KEIris RT mix with dsDNase (All-in-One) 是将RNA合成 cDNA 的一个操作更为简便的系统, 含有第一链 cDNA 合成所需的全部试剂, 仅需加入 RNA 模板和水即可进行逆转录反应, 操作非常方便。使用该逆转录预混液 15 分钟内最长可获得12 kb 大小的 cDNA。合成的 cDNA 推荐用于 qPCR 反应。

该预混液采用特制的高效 dsDNase, 该酶具有热敏感性, 可在高温条件下快速不可逆地失活, 因此仅需一次加样, 即可同管进行去除基因组 DNA 污染与逆转录反应, 与使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染相比, 无需额外加入 EDTA 进行失活, 不仅减少了对 RNA 模板的损伤、降低 RNase 污染风险, 而且节省实验时间。

## 使用方法

1.在冰浴的无核酸酶的离心管中配制下列逆转录体系:

组分	体积
KEIris 5× RT All-in-One Mix	4 μL
dsDNase	1 μL
模板 RNA	50 ng ~ 1 μg
RNase-free water	加至 20 μL

\* 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

2.轻轻混匀, 瞬时离心 (使液体沉于底部);

3.在 PCR 仪上进行下列条件的反应:

37 °C, 温育 2 min, 以去除基因组 DNA 污染;

55 °C, 温育 15 min;

85 °C, 孵育 5 min, 以终止反应。

4.将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于 -20 °C, 用于后续实验。

## 注意事项

1. RNA 模板的纯度和完整性是影响逆转录效果的重要因素, 如模板中含有蛋白、EDTA、酚等杂质会使 RNA 降解。

2.若后续实验为 qPCR, 逆转录产物的加量应不超过 PCR 体系终体积的 1/10, 如 20 μL 的 PCR 反应体系, 逆转录产物的加量应不超过 2 μL。

3.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。