

# HBScript cDNA 反转录试剂盒



Version: HBRG-SC-002

## 产品信息

产品名称	HBScript cDNA 反转录试剂盒
货号	HB-Script-100
存储及运输条件	-20°C保存，冰袋运输
规格	100T
有效期	2 年

## 产品组成

组分	规格
HBScript cDNA Synthesis Master Mix(5X)	200 $\mu$ l
dsDNase	50 $\mu$ l
10 $\times$ dsDNase Buffer	100 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	1 ml

## 产品简介

HBScript cDNA 反转录试剂盒是一款高效、便捷、减少污染的高质量一链 cDNA 合成试剂盒，包含热稳定的 M-MLV GIII Reverse Transcriptase 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。使用该反转录试剂盒获得的 cDNA 主要用于下游 qPCR 实验。

从细胞中提取的 RNA 往往存在基因组 DNA 污染，如果反转录前不将其去除，下游 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时被扩增（尤其当引物设计在同一外显子上时），从而影响基因表达定量准确性。本试剂盒采用 dsDNase 高效去除基因组 DNA 污染，dsDNase 能够特

异性消化双链 DNA (dsDNA 或 DNA-RNA 杂合链中的 DNA 链)，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。

可依据基因组污染严重程度选择采用去基因组 DNA 污染与逆转录分开进行的操作方法，或者去基因组污染与逆转录一步法进行的操作方法。

## 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	50 ng~1 $\mu$ g
HBScript cDNA Synthesis Master Mix	2 $\mu$ l
dsDNase	0.5 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 10 $\mu$ l

注：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；

③37°C温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；

④55°C温育 15 min；

⑤反应结束后，85°C温育 5min 以终止反应，PCR 仪可以设置 4°C，以防未及时放置在冰上；

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°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 $\mu$ g
dsDNase	0.5 $\mu$ l

10×dsDNase Buffer	0.5 μl
Nuclease-Free Water	To 5 μl

注：推荐采用试剂盒提取的 RNA 作为模板。

- ②轻柔吸打混匀，瞬离；
- ③37°C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°C温育时间至 5 min。

- ④65°C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	5 μl
All-in-One First-Strand Synthesis Master Mix	2 μl
Nuclease-Free Water	To 10 μl

- ②轻柔吸打混匀，瞬离；
- ③50°C温育 15 min；

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

- ④反应结束后，85°C温育 5 min，以终止反应，PCR 仪可以设置 4°C，以防未及时放置在冰上；
- ⑤将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验。

注：cDNA 可直接用于 qPCR，或将溶液置于-20°C储存，建议不超过 1 周；置于-80°C可长期储存；应避免反复冻融。

## 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，因此不建议使用本产品进行真核生物全长 cDNA 克隆。