**SiDoTek™ First Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR(with dsDNase)**

**第一链反转录预混试剂盒 qPCR专用（含双链特异性DNA酶）**

**目录号：SDMR2-4a/5a**

**储存条件：-30 ~ -15℃保存2年，≤0℃运输**

**产品内容：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **规格****SDMR2-4a** | **规格****SDMR2-5a** |
| 4× Master SuperMix5×gDNA Eraser MixRNase-free Water | 250 μL100 μL1 mL | 500 μL2×100 μL2×1 mL |

**产品简介**

SiDoTek™ First Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR(with dsDNase)是一款含有基因组去除组分的第一链cDNA合成试剂盒，可高效去除RNA中的基因组DNA污染。4× Master SuperMix 中包含第一链cDNA合成所需的所有组分，使用时仅需加入RNA模板和水即可进行合成，使用本试剂盒获得的cDNA可用于qPCR、普通PCR等实验。

**注意事项**

1. 操作过程严格避免RNase污染。为保证反转录成功，建议使用高质量的RNA样品。

2. 为避免样品间交叉污染和气溶胶污染，推荐在超净台或生物安全柜中进行反应体系的配制,并使用带滤芯的吸头。

3. 5× gDNA Eraser Mix 、4× Master SuperMix 非常粘稠，溶液容易吸附在管壁和吸头外导致损失，用前请离心后再使用，并且避免试剂在吸头外壁沾附而造成大量损失。

4. 请于使用前确保产品完全解冻，彻底混匀后短暂离心，置于冰上备用。反复冻融会影响产品的性能。

5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**实验流程 （以20 μL反应体系为例）**

**基因组DNA去除**

|  |  |
| --- | --- |
| **试剂** | **10 μL体系添加体积** |
| 5× gDNA Eraser Mix | 2 μL |
| Total RNA | ＜1 μg |
| RNase-free Water | up to 10 μL |

用移液器轻轻吹打混匀，37℃反应2min，立即置于冰上，或者继续55℃反应5min后置于冰上。（55℃反应5min能充分失活dsDNase，后续加入的4× Master SuperMix中含有DTT也能抑制dsDNase的活性）

**配制第一链cDNA合成反应体系**

1.试剂配置

|  |  |
| --- | --- |
| **试剂** | **20 μL体系添加体积** |
| 4× Master SuperMix | 5 μL |
| Total RNA | Up to 1 μg |
| RNase-free Water | Up to 20 μL |

2.轻柔吸打混匀。

3.反应程序设置

|  |  |
| --- | --- |
| **温度** | **孵育时间** |
| 25℃42℃**\***85℃ | 5 ~ 10min15~20 min5 min |

**\*如果模板具有复杂二级结构或高GC区域，可将反应温度提高到55℃，有助于提高产量。**

4.该产物可直接用于第二链的合成或qPCR扩增反应，请在-20℃保存产物，并在半年内使用，长期存放建议分装后在-80℃保存。做qPCR时，建议取1/10 ~ 1/5 体积(即2 ~ 4 μl)的反转录产物作为PCR模板。丰度高的可以酌情适当稀释cDNA后使用。cDNA应避免反复冻融。