

All-in-One MasterMix 四代逆转录酶 (with dsDNase)

货号: F0303

存储条件: -20℃

产品组分

组分	规格
All-in-One MasterMix GIV	400 μl
dsDNase	2×50 μl
10× dsDNase Buffer	200 μl
Nuclease-Free Water	2×1 ml

产品介绍

All-in-One MasterMix 四代转录酶(with dsDNase)是针对一链 cDNA 合成开发出的一个操作更为简便的系统, 包含所有一链 cDNA 合成反应所需组分, 反应中仅需加入 RNA 模板和水。预混液中的 M-MLV GIV Reverse Transcriptase 是全新开发的第四代逆转录酶, 该酶具有更快的反应速度, 只需要 5 分钟就可以完成逆转录反应过程; 更高的产物得率和更长 cDNA 片段的获得; 更加宽广的模板使用范围。dsDNase 可在引物及探针存在的情况下特异性消化双链 DNA, 不会消化单链 DNA 和 RNA, 并且具有热敏感性, 可在高温条件下快速地进行不可逆失活, 实现去除基因组污染, 能避免 dsDNase 在逆转录过程中对 DNA 与 RNA 杂合链中的 DNA 损伤。

产品特点

1. 预混液包含除 RNA 模板外一链 cDNA 合成反应的所有组分, 操作方便、减少污染。
2. 更快的反应速度。
3. 更高的产物得率和更长 cDNA 片段的获得。
4. 更加宽广的模板使用范围。

使用方法

针对基因组含量高 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	体积
模版 RNA ^a	50ng-1ug
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 RNA 作为模板。

② 轻柔吸打混匀, 瞬离;

③ 37℃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	体积
上一步反应产物	10 μl
All-in-One MasterMix GIV	4 μl
Nuclease-Free Water	To 20 μl

② 轻柔吸打混匀后, 离心;

③ 55℃ 孵育 5 分钟;

注: 若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构, 可预先 25℃温育 10 分钟;

④ 反应结束后, 85℃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℃储存, 建议不超过 1 周; 置于-80℃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	体积
模版 RNA ^a	50ng-1μg
All-in-One MasterMix GIV	4 μl
dsDNase	1 μl
Nuclease-Free Water	To 20 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, 瞬离;

③ 37℃温育 2 min, 以去除基因组 DNA 污染;

④ 55℃温育 5 min;

⑤ 反应结束后, 85℃温育 5 min 以终止反应;

⑥ 将获得的 cDNA 溶液置于冰上, 用于后续实验。

注: cDNA 溶液置于-20℃储存, 建议不超过 1 周; 置于-80℃可长期储存。

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。

