

RTase IV All-in-One MasterMix (with dsDNase)

REF: EG25110S

储存条件

-20°C保存 2 年

产品组成

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

产品简介

RTase IV All-in-One MasterMix (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 | 使用量 |
|---------------------|------------|
| 模板 RNA ^a | 50 ng~1 µg |
| dsDNase | 1 µl |
| 10× dsDNase Buffer | 1 µl |
| Nuclease-Free Water | To 10 µl |

a. 推荐采用试剂盒提取的 RNA 作为模板。

- ② 轻柔吸打混匀，瞬离；
- ③ 37°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。
- ④ 65°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 |
|-------------------------------|----------|
| 上一步反应产物 | 10 µl |
| RTase IV All-in-One MasterMix | 4 µl |
| Nuclease-Free Water | To 20 µl |

- ② 轻柔吸打混匀后，离心；
- ③ 55°C 孵育 5 分钟；
注：若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构，可预先 25°C 温育 10 分钟；
- ④ 反应结束后，85°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°C 储存，建议不超过 1 周；置于 -80°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 ^a | 50 ng~1 µg |
| RTase IV All-in-One MasterMix | 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°C 温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；
- ④ 55°C 温育 5 min；
- ⑤ 反应结束后，85°C 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°C 储存，建议不超过 1 周；置于 -80°C 可长期储存。

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。