

## GIV 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
GIV All-in-One MasterMix	400 $\mu$ l
dsDNase	2×50 $\mu$ l
10× dsDNase Buffer	200 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	2×1 ml

### 产品简介

GIV 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。使用该逆转录试剂盒获得的 cDNA 主要用于下游 qPCR 实验。

预混液中的 M-MLV GIV Reverse Transcriptase 是全新开发的第四代逆转录酶，具有更快的反应速度，5 分钟即可完成逆转录过程；热稳定性更强，最适反应温度 55°C；cDNA 产物长度可达 20 kb；对乙醇、异丙醇、腐殖酸、氯化锂、盐酸胍等常见抑制剂均有耐受能力。

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。

### 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 <sup>a</sup>	50 ng~1 $\mu$ g
dsDNase	1 $\mu$ l
10× dsDNase Buffer	1 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 10 $\mu$ l

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 $\mu$ l
GIV All-in-One MasterMix	4 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ l

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 <sup>a</sup>	50 ng~1 $\mu$ g
GIV All-in-One MasterMix	4 $\mu$ l
dsDNase	1 $\mu$ l
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ l

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)<sub>20</sub>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。