

Hifair[®] Ultra Reverse Transcriptase (400 U/ μ L)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
	14605ES03	1 mL
Hifair [®] Ultra Reverse Transcriptase (400 U/ μ L)	14605ES08	5 mL
	14605ES10	10 mL

产品描述

Hifair[®] Ultra Reverse Transcriptase 是对 Hieff[®] M-MLV (H) Reverse Transcriptase 进行基因工程改造的全新逆转录酶，该酶缺乏 RNase H 活性，合成全长 cDNA 的能力大幅提升，可扩增长达 20 kb 的 cDNA。Hifair[®] Ultra Reverse Transcriptase 的热稳定性显著提高，耐受温度达 65°C，可对具有复杂二级结构的 RNA 模板高效逆转录。与 Hieff[®] M-MLV (H) Reverse Transcriptase 相比，Hifair[®] Ultra Reverse Transcriptase 具有更高的持续合成能力及合成速率，同时增强了耐抑制剂的能力，可有效解决样品中的抑制剂导致逆转录效率低下的问题。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格		
		14605ES03	14605ES08	14605ES10
14605	Hifair [®] Ultra Reverse Transcriptase (400 U/ μ L)	1 mL	5 mL	10 mL

产品应用

全长 cDNA 文库构建；
终点法 PCR；
RT-PCR 及实时定量 RT-PCR 等。

运输与保存方法

干冰运输，-20°C 保存，有效期一年。

注意事项

- 1) 请保持实验区域洁净；操作时需穿戴干净的手套、口罩；实验所用耗材均需保证 RNase free，以防止 RNase 污染；
- 2) 所有操作均应在冰上进行，防止发生 RNA 降解；
- 3) 为保证逆转录成功，建议使用高质量的 RNA 样本；
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 5) 本产品仅用作科研用途！

第一链 cDNA 合成操作步骤

1. RNA 变性（此步为可选步骤，RNA 变性有助于打开二级结构，可在很大程度上提高第一链 cDNA 的产量。）

组分	使用量
RNase free ddH ₂ O	to 13 μL
Oligo (dT) ₁₈ (50 μM)	1 μL
or Random Primers (50 μM)	or 1 μL
or Gene Specific Primers (2 μM)	or 1 μL
模板 RNA	Total RNA: 10 pg -5 μg 或 mRNA: 1 pg-500 ng

65°C加热 5 min，迅速置于冰上冷却 2 min。简短离心收集反应液后加入下表中的逆转录反应液，并用移液器轻轻吹打混匀。

2. 逆转录反应液配制

组分	使用量
上一步的反应液	13 μL
5×Hifair® Ultra Reverse Transcriptase Reaction Buffer (cat#15664)	4 μL
dNTP Mix (10 mM)	1 μL
Hifair® Ultra Reverse Transcriptase (400 U/μL)	200 U
RNase Inhibitor (40 U/μL)	1 μL

3. 逆转录程序设置

温度	时间
25°C	5 min
50°C	15 min
85°C	5 min

- 【注】：**
- 1) 当使用 Random Primers 时，需 25°C，孵育 5 min；若使用 Oligo (dT)₁₈ 或 Gene Specific Primers，此步可省略；
 - 2) 逆转录温度：推荐使用 50°C。对于高 GC 含量模板或者复杂模板，可将逆转录温度提高到 55°C-60°C；
 - 3) 85°C加热 5 min，目的是使逆转录酶失活。

※ 逆转录产物可立即用于后续 PCR 或 qPCR 反应，也可-20°C短期保存，若需长期保存，建议分装后，于-80°C保存，避免反复冻融。