

Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (gDNA digester plus)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (gDNA digester plus)	11123ES10	10 T
Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (gDNA digester plus)	11123ES60	100 T

产品描述

Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (gDNA digester plus) 基于 Hifair® II Reverse Transcriptase 而开发的即用型预混液。该酶的热稳定性大幅度提高，可耐受高达 50°C 的反应温度，适合具有复杂二级结构的 RNA 模板的逆转录。同时，该酶增强了与模板的亲合力，适合少量模板以及低拷贝基因的逆转录。

该预混液包含 gDNA digester 和 2×Hifair® II SuperMix plus。gDNA digester 可去除 RNA 模板中残留的基因组 DNA 污染，保证后续结果更加可靠。2×Hifair® II SuperMix plus 含有逆转录反应所需的所有组分（Buffer, dNTP, Hifair® II Reverse Transcriptase, RNase inhibitor, Random primers/ Oligo (dT)₁₈ primer mix），只需加入 RNA 模板和 RNase-free H₂O 即可进行逆转录反应，并同时终止 gDNA digester 的作用，保证 cDNA 的完整性。

该产品适用于两步法 RT-qPCR 检测，针对 qPCR 进行 Random primers/ Oligo (dT)₁₈ primer 的比例优化，使 cDNA 合成可从 RNA 转录本的各个区域起始，并具有相同的逆转录效率，最大程度保证了 qPCR 结果的真实性和可重复性。逆转录产物兼容 SYBR® Green 和探针法 qPCR，可以根据实验目的，选择 UNICON® qPCR SYBR® Green Master Mix, Hieff® qPCR SYBR® Green Master Mix 或 Hieff® qPCR TaqMan Probe Master Mix 等试剂配合使用，进行高性能的基因表达分析。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格	
		11123ES10 (10 T)	11123ES60 (100 T)
11123-A	RNase-free H ₂ O	1 mL	2×1 mL
11123-B	5×gDNA digester Buffer	20 μL	200 μL
11123-C	gDNA digester	10 μL	100 μL
11123-D	2×Hifair® II SuperMix plus	100 μL	1 mL

【注】: 2×Hifair® II SuperMix plus 含有 gDNA digester 抑制剂。

运输和保存方法

冰袋运输。-20°C 保存，有效期 18 个月。

注意事项

- 1) gDNA digester 和 2×Hifair® II SuperMix plus 含有高浓度的甘油，使用前请短暂离心，吹打混匀。
- 2) 建议 RNA 是溶于水而不是 TE Buffer 中，因为 TE Buffer 会干扰 gDNA 去除以及逆转录反应。
- 3) 可以不经基因组去除步骤，直接进行逆转录，这样所得到的结果与使用 Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (Cat No. 11120ES) 效果一致。但是请勿将 gDNA digester 与 11120ES 中的 2×Hifair® II SuperMix 配套使用，因其不含终止 gDNA digester 反应的成分，会影响反转录和后续的 qPCR 实验。
- 4) 反应液的配制应在冰上操作完成，操作过程应避免 RNase 污染。
- 5) 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 6) 本产品仅作科研用途！

第一链 cDNA 合成操作步骤

1. 残留基因组 DNA 去除

在 RNase free 离心管中配制如下混合液，用移液器轻轻吹打混匀。42°C 孵育 2 min。

组分	使用量
RNase-free H ₂ O	To 10 μL
5×gDNA digester Buffer	2 μL
gDNA digester	1 μL
Total RNA	1 ng -5 μg*
or mRNA	1 ng-500 ng*

【注】：* 20 μL 逆转录反应体系建议 Total RNA 的投入量不超过 1 μg。如果目的基因的表达丰度低，最多投入 5 μg Total RNA，否则 RNA 投入量过高，可能会超过后续定量 PCR 的线性范围。

2. 逆转录反应体系配制（20 μL 体系）

在第 1 步的反应管中直接加入 2×Hifair® II SuperMix plus，用移液器轻轻吹打混匀。

组分	使用量
第 1 步的反应液	10 μL
2×Hifair® II SuperMix plus	10 μL

3. 逆转录程序设置

将上述混合液按照下表程序进行孵育。

温度	时间
25°C	5 min
42°C	30 min
85°C	5 min

【注】：逆转录温度：推荐使用 42°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 50°C。

4. 逆转录产物可立即用于 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。