

Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit	11119ES60	100 T	-20°C

产品描述

Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 是基于 Hifair® II Reverse Transcriptase 开发的试剂盒。与 Hieff® M-MLV (H) Reverse Transcriptase 相比, Hifair® II Reverse Transcriptase 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。Hifair® II Reverse Transcriptase 合成全长 cDNA 的能力也有了提升, 可扩增长达 10 kb 的 cDNA。

试剂盒中包含由总 RNA 或 mRNA 合成高质量第一链 cDNA 所需的所有成分, 并提供两种 cDNA 合成引物: Random Primers N6 和 oligo (dT)₁₈, 合成的单链 cDNA 产物可直接用来进行后续 PCR 或者 qPCR 反应。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格
		11119ES60 (100 T)
11119-A	RNase-free H ₂ O	2×1 mL
11119-B	5×Hifair® II Buffer	400 μL
11119-C	Hifair® II Enzyme Mix	200 μL
11119-D	Oligo (dT) ₁₈ (50 μM)	100 μL
11119-E	Random Primers N6 (50 μM)	100 μL

【注】: 1) 5×Hifair® II Buffer 中包含 dNTP。2) Hifair® II Enzyme Mix 中包含 RNase inhibitor。

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) 反应液的配制应在冰上操作完成, 操作过程应避免 RNase 污染。
- 2) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 3) 本产品仅作科研用途!

第一链 cDNA 合成操作步骤

1. 逆转录反应体系配制 (20 μ L 体系)

组分	使用量
RNase-free H ₂ O	To 20 μ L
Total RNA	1 ng -5 μ g*
or mRNA	1 ng-500 ng*
5 \times Hifair [®] II Buffer	4 μ L
Random Primers N6 (50 μ M)	1 μ L
or Oligo (dT) ₁₈ (50 μ M)	or 1 μ L
or Gene Specific Primers (2 μ M)	or 1 μ L
Hifair [®] II Enzyme Mix	2 μ L

【可省略】：若后续实验为 PCR，针对复杂模板，可将 RNA、H₂O、反转录引物在 65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min 后，迅速冰上冷却，然后再加入 Hifair[®] II Enzyme Mix；若后续实验为 qPCR，则可省略 65 $^{\circ}$ C 孵育步骤，直接在体系中加入 Hifair[®] II Enzyme Mix。

【注】：* 若后续实验为 qPCR，建议 Total RNA 或 mRNA 投入量不超过 1 μ g 或 100 ng，如果目的基因的表达丰度非常低，最多可投入 5 μ g Total RNA 或 500 ng mRNA。

2. 逆转录程序设置

温度	时间
25 $^{\circ}$ C	5 min
42 $^{\circ}$ C	30 min
85 $^{\circ}$ C	5 min

【注】：1) 荧光定量实验可以只使用 Random Primers N6；也可以 1:1 与 Oligo (dT)₁₈ 混合使用，效果更好。

2) 逆转录温度：推荐使用 42 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C。

3) 逆转录产物可以 -20 $^{\circ}$ C 短期保存，若需长期保存，建议分装后，于 -80 $^{\circ}$ C 保存，避免反复冻融。

关于引物的选择

- 1) 如果模板为真核生物来源，建议选择 Oligo (dT)₁₈，与真核生物 mRNA 的 3' Poly A 尾配对，可获得最高产量的全长 cDNA。
- 2) 原核生物 RNA 的反转录请选用 Random Primers N6 或者基因特异性引物。
- 3) Random Primers N6 适用性较广，mRNA、rRNA、tRNA、small RNA 和 LncRNA 等模板均可用 Random Primers N6 进行反转录。
- 4) 使用 Random primers N6，进行 2 kb 以下的 cDNA 合成时，Random primers N6 的使用量为 1-2 μ L；2 kb 以上的 cDNA 合成时，Random primers N6 的使用量为 0.4-1 μ L。