

Hifair[®] III Reverse Transcriptase, 200 U/ μ L, Glycerol-free

第三代耐热逆转录酶(无甘油版)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair [®] III Reverse Transcriptase, 200 U/ μ L, Glycerol-free	11302ES12	10000 U
第三代耐热逆转录酶（无甘油版）	11302ES75	5*10000 U

产品描述

Hifair[®] III Reverse Transcriptase 是在 Hifair[®] II Reverse Transcriptase 基础上通过基因工程技术得到的新一代逆转录酶，与 Hifair[®] II Reverse Transcriptase 相比，其 cDNA 合成速度快，且热稳定性大幅度提高，可耐受高达 60°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，非常适合少量模板以及低拷贝基因的逆转录。Hifair[®] III Reverse Transcriptase 合成全长 cDNA 的能力也有了提升，可扩增长达 19.8 kb 的 cDNA。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格	
		11302ES12 (10000 U)	11302ES75(5*10000 U)
11302	Hifair [®] III Reverse Transcriptase, 200 U/ μ L, Glycerol-free	50 μ L	250 μ L

产品应用

全长 cDNA 文库构建；终点法 PCR；实时定量 PCR 等。

活性定义

以 Poly(A) .Oligo(dT)为模板-引物，在 37°C，10 min 内，将 1 nmol 的 dTTP 掺入为酸不溶性物质所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

运输与保存方法

冰袋运输。4°C 保存，有效期 6 个月。

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 RNA 降解；
3. 为保证高效率逆转录，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。

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 ng/μL)	or 1 μL
or Gene Specific Primers (2 μM)	or 1 μL
模板 RNA	Total RNA: 10 pg -5 μg 或 mRNA:10 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. 逆转录反应体系配制（20 μL 体系）

组分	使用量
上一步的反应液	13 μL
5×Buffer	4 μL
dNTP Mix (10 mM)	1 μL
Hifair® III Reverse Transcriptase, 200 U/μl, Glycerol-free	1 μL
RNase inhibitor (40 U/μL)	1 μL

3. 逆转录程序设置

温度	时间
25°C	5 min
55°C	15-30 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 55°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 60°C；
 3) 可将逆转录时间延长到 45-60min，有助于提高产量；
 4) 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。