

HiFiScript All-in-one RT SuperMix for qPCR

一步法反转录试剂盒（去基因组）

产品信息

产品名称	产品货号	规格
5×HiFiScript All-in-one qRT SuperMix	RM1371S 10rxns	40μL
RNase-Free Water		1mL
5×HiFiScript All-in-one qRT SuperMix	RM1371M 100rxns	400μL
RNase-Free Water		2×1mL

保存条件

-20℃保存。

产品介绍

HiFiScript All-in-one RT SuperMix for qPCR 是增加了去除基因组 DNA (gDNA) 功能的 Real Time PCR 用逆转录反应试剂盒, 使用了本公司新型高效率逆转录酶。常见 RNA 抽提方法纯化的 Total RNA 中经常会混入微量的 gDNA, 将其逆转录后获得的 cDNA 通过 Real Time PCR 进行基因表达分析时, 若检测目的基因中存在假基因, 或无法在横跨内含子的位置上设计引物, 混入的 gDNA 会被当作模板扩增, 影响扩增结果的准确性。本产品中预混了具有强力 DNA 分解活性的热敏型 DNase, 该 DNase 生效快、效率高、易失活, 只需一步操作, 即可简便地获得不含 gDNA 的 cDNA。

使用本产品合成的 cDNA 适用于染料法和探针法 qPCR 分析。

产品特点

- **可简便、迅速地去除基因组 DNA 和合成 cDNA:** 所有去除 gDNA 反应试剂和逆转录反应试剂已预混, 通过单管反应只需约 15 分钟, 即可实现 gDNA 去除和 cDNA 合成。

- **高热稳定性：**50°C条件下进行逆转录反应。
- **可对 RNA 的整个区域进行均一的逆转录反应：**采用了最适用于 Real Time PCR 用 cDNA 合成的反应 buffer 和按最佳比例混合的 Primer mix（Oligo dT 及 Random Primer），可对 RNA 的整个区域进行均一、高效率的逆转录。
- **与 Real Time PCR 试剂的高适应性：**采用了对 Real Time PCR 的反应体系影响最小的组分，即便向 PCR 反应液中带入最多 20%液量的逆转录反应液，也能显示出很好的线性。因此，该试剂盒适用于低丰度 mRNA 的检测。

操作步骤

RNA 的变性（可选步骤）*：

- a. 把 RNA 在 65°C 条件下热变性 5 分钟后，立即置于冰上冷却。
- b. *在经过以上步骤的处理后，可提高含有二级结构 RNA 的逆转录效率，初次实验时，建议探讨条件。

去除基因组 DNA 反应和逆转录反应：

- a. 请在冰上配制如下反应液。

组分	20 μ L 体系	终浓度
5 $\times$ HiFiScript All-in-one qRT SuperMix	4 μ L	1 $\times$
RNA template	X μ L	10pg-1 μ g
RNase-Free Water	Up to 20 μ L	

本产品是含有逆转录引物（Random Primer 及 Oligo dT Primer）的预混试剂，不能使用基因特异性引物（Gene Specific Primer）。

- b. 将反应液轻轻地搅拌均匀后，按以下温度进行反应。

温度	时间	反应
50°C	15min	去 gDNA+逆转录反应
85°C	5sec	酶失活反应
4°C	∞	hold

- c. 反应结束后，请在 4°C 或-20°C（长期）条件下保存，cDNA 应避免反复冻融。Real Time PCR 时，作为模板直接或稀释后添加。

- d. 添加到 Real Time PCR 反应液中的逆转录反应液，请最多不要超过 20%。过量的添加会导致 Real Time PCR 反应效率低下，无法准确地定量。

注意事项

1. 本产品采用热敏型 DNase，请务必将 5×HiFiScript All-in-one qRT SuperMix 置于冰上。
2. 5×HiFiScript All-in-one qRT SuperMix 使用前请短暂离心收集至管底，并用移液器轻轻吹打充分混匀后，准确吸取。
3. 在操作过程中应避免 RNase 污染，用于逆转录反应和 PCR 反应的 RNase-Free Water，建议和用于其它实验的 RNase-Free Water 分开保存，避免共用。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。