



HiFa 反转录试剂盒

CAT. NO. ZJ0001

1. 产品说明

致佳生物 HiFa RTase 是一款基于 M-MLV 反转录酶改造的反转录酶。通过酶工程技术改造，我们降低了 M-MLV 酶中的 RNase H 活性并提高了反转录的效率。该酶可在 37°C 的温度下合成第一链 cDNA，相较于其他逆转录酶提供更高的 cDNA 产量、更高的特异性和更多的全链产物。可生成 100 bp 到 12 kb 以上长度的 cDNA，反应得到的 cDNA 产物可以直接用于下游 qPCR 以及基因克隆 PCR 使用。

2. 产品组分

本产品含有 HiFa RTase (200 U/μl)、5×Reverse Transcript Buffer 以 Primer Mix 组份，可满足 100 次反转录反应 (20ul 体系)。本试剂盒采用一步法进行反转录反应，在保证效果的同时，提升实验便捷性和实用性。试剂盒还可以满足个性化的需求，如基因特异性引物扩增、3'Race 等实验需求，使用该产品进行反转录时，只需要自备 DEPC 水、模板 DNA 即可。

组分	含量
HiFa RTase (200 U/μl)	200 μL
5×Reverse Transcript Buffer	400 μL
Primer Mix	100 μl

3. 保存条件: -20°C 左右保存，在使用前室温解冻 5×Reverse Transcript Buffer、Primer Mix，用完后立即冻存。

4. 第一链 cDNA 合成实验流程

在冰上配制反应体系；

- 以下 20 μl 的反应体系可用于 10 pg-1 μg 的总 RNA 或 10 pg-100 ng 的 mRNA。
- 除了使用我们提供的引物外，用户还可以自备引物，每 20 μl 反转录体系可以使用引物：1 μl oligo(dT)₂₀ (50 μM)；或 200–500 ng oligo(dT)₁₂₋₁₈；或 50–250 ng random primers；或 2 pmol of gene-specific primer
- 在 nuclease-free 的离心管中按照以下表格列出的顺序添加组分：

组分	20 μL 体系	终浓度
RNA	X μl	10pg-1ug
Primer Mix	1 μl	-
5× Reverse Transcript Buffer	4 μl	0.5 mM
HiFa RTase (200 U/μl)	2	10 U/ul
DEPC H ₂ O	至 20μl	-

- 移液枪轻吹或者涡旋混匀，瞬离；
- 若使用随机引物，则需要先 25°C 5 min；
- 37°C 15-30 min；
- 70°C 5 min，终止反应。

得到的 cDNA 可以作为 PCR 扩增或 qPCR 的模板。但是如果需要扩增较长的目的片段 (>3 kb)，可能需要去除与 cDNA 互补的 RNA，需加入 1μl (2U) *E. coli* RNase H，37°C 下孵育 20 min。

5. 应用案例

为了测试反转录酶的活性，我们分别将不同浓度的 VSV 病毒加入到相同细胞中，TRIzol 提取总 RNA，分别用我们公司的 HiFa RTase，进口 invitrogen SSIII 以及某国产反转录试剂盒进行反转录，使用相同的 qPCR 荧光定量试剂盒探究反转录试剂盒的性能。可以看到，我们的反转录试剂盒性能与进口试剂 SSIII 基本相同，由于某国产产品。定量不同滴度的 VSV 病毒时，具有良好的梯度效应，反转录效率高，性能稳定。

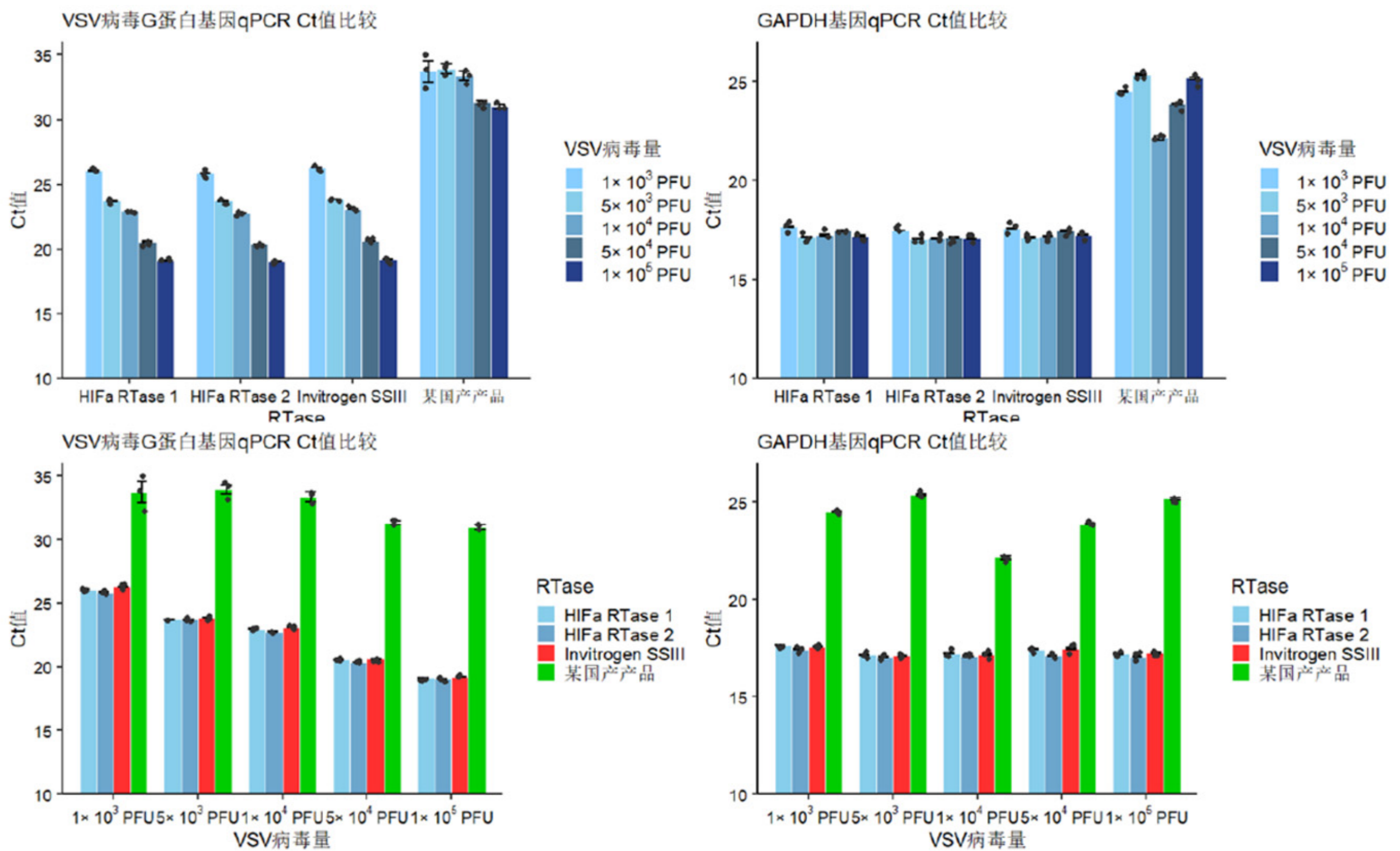


图. 不同反转录试剂盒的性能比较