

Hifair UCF. ME[®] Advanced Reverse Transcriptase (200 U/ μ L)

产品简介

Hifair UCF. ME[®] Advanced Reverse Transcriptase 是在 Hieff[®] M-MLV (H-) Reverse Transcriptase 基础上通过基因工程技术得到的全新逆转录酶，与 Hieff[®] M-MLV (H-) Reverse Transcriptase 相比，其速度和稳定性大幅度提高。此外，该产品经过翌圣生物特别研发的精制工艺处理，产品中核酸酶、宿主 gDNA 以及其他背景菌 gDNA 残留极低，适用于快速全预混 RT-qPCR 试剂开发。

产品信息

货号	14614ES92 / 14614ES97 / 14614ES98
规格	10 KU / 100 KU / 200 KU
单位定义	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)。

组分信息

组分名称	14614ES92	14614ES97	14614ES98
Hifair UCF. ME [®] Advanced Reverse Transcriptase (200 U/ μ L)	50 μ L	500 μ L	1 mL

储存条件

-25~-15°C保存，有效期 1 年。

使用说明

1. 两步法 RT-PCR/qPCR (第一链 cDNA 合成)

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 μ L
Oligo (dT)18 (50 μ M)	1 μ L
or Random Primers (50 μ M)	or 1 μ L
or Gene Specific Primers (2 μ M)	or 1 μ L
模板 RNA	Total RNA: 1 ng -5 μ g 或 mRNA: 1-500 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，并轻轻吹打混匀。

2) 逆转录反应体系配制 (20 μ L 体系)

组分	使用量
上一步的反应液	13 μ L
5 \times RT Buffer	4 μ L
dNTP Mix (10 mM)	1 μ L
Hifair UCF. ME [®] Advanced Reverse Transcriptase (200 U/ μ L)	200 U
RNase inhibitor (40 U/ μ L)	1 μ L
RNase free ddH ₂ O	To 20 μ L

3) 逆转录程序设置

温度	时间
25°C*	5 min
42°C**	15-30 min
85°C***	5 min

*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。

**逆转录温度: 推荐使用 42°C。对于高 GC 含量模板或者复杂二级结构的模板, 可将逆转录温度提高至 50-60°C。

***85°C加热 5 min, 目的是使逆转录酶失活。

4) 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。

2. 一步法 RT-PCR/qPCR

该逆转录酶适用于一步法 RT-PCR/qPCR, 推荐每 25 μ L 反应体系, 添加 10-40 U 逆转录酶, 最适逆转录条件为 50°C 15min, 也可根据实际情况逐步增加逆转录酶用量, 多重体系建议提高酶量。

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. 本产品仅用作科研用途。
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。