

Hifair[®] AdvanceFast 1st Strand cDNA Synthesis Kit (No Dye)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair [®] AdvanceFast 1st Strand cDNA Synthesis Kit (No Dye)	11150ES10	10T
	11150ES60	100T

产品描述

Hifair[®] AdvanceFast 1st Strand cDNA Synthesis Kit (No Dye)是基于 Hifair[®] III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (No Dye)开发的快速反转录试剂盒,适用于 PCR 扩增以及 RT-qPCR 实验。与 Hifair[®] III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (No Dye)相比,具有稳定的检出率、特异性、产量保证,且反转录总时长最快可低于 6 分钟,大大缩短了实验时间。

该试剂盒包含 gDNA Digester Mix,可去除 RNA 模板中残留的基因组 DNA 污染,保证后续结果更加可靠。该试剂盒提供两种 cDNA 合成引物: Random Primers N6 和 Oligo (dT)₁₈,用户可根据需要,选择 Random Primers N6, Oligo (dT)₁₈ 或 Gene Specific Primers 作为反转录引物,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

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		11150ES10 (10 T)	11150ES60 (100 T)
11150-A	4× Hifair [®] AdvanceFast SuperMix (No Dye)	50 μL	500 μL
11150-B	5×gDNA Digester Mix	20 μL	200 μL
11150-C	Random Primers (50 μM)	20 μL	200 μL
11150-D	Oligo d(T) ₁₈ Primers (50 μM)	20 μL	200 μL
11150-E	RNase-free Water	200 μL	1 mL* 2

运输和保存方法

冰袋运输。-20℃保存,有效期 12 个月。反转录产物可立即用于后续反应,也可-20℃短期保存,若需长期保存,建议分装后,于-80℃保存,避免反复冻融。

第一链 cDNA 合成操作步骤

一、若实验需要去除残留基因组 DNA

1. gDNA 消化

在 RNase-free 离心管中配制如下混合液,用移液器轻轻吹打混匀。42℃孵育 2 min。

组分	使用量
RNase-free H ₂ O	To 10 μL
5× gDNA Digester Mix	2 μL
Total RNA	10 pg -5 μg*
or mRNA	10 pg-500 ng*

2. 反转录反应体系配制 (20 μL 体系)

组分	使用量
上一步的反应液	10 μ L
4×Hifair [®] AdvanceFast SuperMix (No Dye)	5 μ L
Oligo d(T) ₁₈ Primers (50 μ M)	2 μ L
or Random Primers (* for qPCR) (50 μ M)	or 2 μ L
RNase-free Water	To 20 μ L

- 【注】:** 1) 引物投入量可根据模板投入量调整, 如果反转录产物用于 qPCR 实验, 可在体系中按推荐量添加 Random Primers。
 2) 建议先加入 4×Hifair[®]AdvanceFast SuperMix (No Dye) 混匀后再加入反转录引物, 以保证引物不受 gDNA Digester 影响。
 3) 体系配制完成后, 请用移液器轻轻吹打混匀。

3. 反转录程序设置

温度	时间
55°C	5 min
85°C	5 s

二、若实验无需去除基因组 DNA

1. 反转录反应体系配制 (20 μ L 体系)

组分	使用量
4×Hifair [®] AdvanceFast SuperMix (No Dye)	5 μ L
Oligo d(T) ₁₈ Primers (50 μ M)	2 μ L
or Random Primers (* for qPCR) (50 μ M)	or 2 μ L
Total RNA	10 pg - 5 μ g
or mRNA	10 pg - 500 ng
RNase-free Water	To 20 μ L

2. 反转录程序设置

温度	时间
55°C	5 min
85°C	5 s

- 【注】:** 1. 建议 Total RNA 的投入量不超过 2 μ g。如果目的基因的表达丰度低, 可增加投入量至最多 5 μ g Total RNA。
 2. 引物投入量可根据模板投入量调整, 如果反转录产物用于 qPCR 扩增实验, 需在体系中添加 Random Primers。
 3. 对于高 GC 含量模板或者复杂模板, 可将反转录温度提高到 60°C。
 4. 本产品可合成 14 kb 以下的 cDNA 序列, 如需得到更长的 cDNA 产物, 可适当延长反转录时间。

注意事项

- 1) 所有操作均应在冰上进行, 且操作过程应避免 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!