

## Hifair® III Reverse Transcriptase

### 产品简介

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。

### 产品信息

货号	11111ES92 / 11111ES93 / 11111ES08
规格	10,000 U / 50,000 U / 5 mL
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

组分编号	组分名称	11111ES92	11111ES93	11111ES08
11111-A	5×Hifair® III Buffer	250 µL	1,250 µL	25 mL
11111-B	Hifair® III Reverse Transcriptase (200 U/µL)	50 µL	250 µL	5 mL

### 储存条件

-25~-15°C保存，有效期 18 个月。

## 使用说明

### 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 <sub>2</sub> O	to 13 $\mu$ L
Oligo (dT)18 (50 $\mu$ M) or Random Primers (50 $\mu$ M) or Gene Specific Primers (2 $\mu$ M)	1 $\mu$ L or 1 $\mu$ L or 1 $\mu$ L
模板 RNA	Total RNA: 10 pg - 5 $\mu$ g 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，并轻轻吹打混匀。

2. 逆转录反应体系配制（20  $\mu$ L 体系）

组分	使用量
上一步的反应液	13 $\mu$ L
5 $\times$ Hifair <sup>®</sup> III Buffer	4 $\mu$ L
dNTP Mix (10 mM)	1 $\mu$ L
Hifair <sup>®</sup> III Reverse Transcriptase (200 U/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L
RNase inhibitor (40 U/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L

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

\*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 55°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 60°C。

\*\*\*可将逆转录时间延长到 45-60min，有助于提高产量。

\*\*\*\*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。

## 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。