

Hifair® IV Reverse Transcriptase

第四代耐热逆转录酶

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair® IV Reverse Transcriptase 第四代耐热逆转录酶	11112ES92	10000 U
	11112ES93	5×10000 U

产品描述

Hifair® IV 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，其热稳定性大幅度提高，可耐受 60°C，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，适合低拷贝基因的逆转录和 mRNA 文库构建。Hifair® IV Reverse Transcriptase 合成全长 cDNA 的能力也有了提升，可扩展长达 10 kb 的 cDNA。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格	
		11112ES92 (10000 U)	11112ES93 (5×10000 U)
11112-A	5×Hifair® IV Buffer	250 µL	1200 µL
11112-B	Hifair® IV Reverse Transcriptase (200 U/µL)	50 µL	250 µL

产品应用

全长 cDNA 文库构建；终点法 PCR；实时定量 PCR 等。

活性定义

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)。

运输与保存方法

冰袋运输。-20°C 保存，有效期一年。

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，防止发生 RNA 降解；
- 3) 为保证逆转录成功，建议使用高质量的 RNA 样本；
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 5) 本产品仅做科研用途！

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 ₂ O	to 13 μL
Oligo (dT) ₁₈ (50 μM)	1 μL
or Random Primers (50 μM)	or 1 μL
or Gene Specific Primers(2 μM)	or 1 μL
模板 RNA	Total RNA: 10 pg -5 μg 或 mRNA:1 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，并用移液器轻轻吹打混匀。

2. 逆转录反应液配制

组分	使用量
上一步的反应液	13 μL
5×Hifair® IV Buffer	4 μL
dNTP Mix(10 mM)	1 μL
Hifair® IV Reverse Transcriptase (200 U/μL)	1 μL
RNase Inhibitor (40 U/μL)	1 μL

3. 逆转录程序设置

温度	时间
25°C	5 min
50°C	15 min
85°C	5 min

- 【注】:** 1) 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；
 2) 逆转录温度：推荐使用 50°C。对于高 GC 含量模板或者复杂模板，可将逆转录温度提高到 55°C-60°C；
 3) 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。