



HiFiScript All-in-one RT Master Mix for qPCR

Cat. No. CW3371

产品简介

HiFiScript All-in-one RT Master Mix for qPCR是增加了去除基因组DNA (gDNA)功能的Real Time PCR用逆转录反应试剂盒，使用了本公司新型高效率逆转录酶。

常见RNA抽提方法纯化的Total RNA中经常会混入微量的gDNA，将其逆转录后获得的cDNA通过Real Time PCR进行基因表达分析时，若检测目的基因中存在假基因，或无法在横跨内含子位置上设计引物，混入的gDNA会被当作模板扩增，影响扩增结果的准确性。本产品中预混了具有强力DNA分解活性的热敏型DNase，该DNase生效快、效率高、易失活，只需一步操作，即可简便地获得不含gDNA的cDNA。

使用本产品合成的cDNA适用于染料法和探针法qPCR分析。可以根据实验目的，选择与SuperStar Universal SYBR Master Mix (CWBIO#CW3360) 等定量PCR试剂组合使用。

保存条件： -20℃保存。

产品内容

Component	CW3371S 10rxns	CW3371M 100rxns
5×HiFiScript All-in-one qRT Master Mix	40μL	400μL
RNase-Free Water	1mL	2×1mL

产品特征

1. 可简便、迅速地去除基因组DNA和合成cDNA

所有去除gDNA反应试剂和逆转录反应试剂已预混，通过单管反应只需约15分钟，即可实现gDNA去除和cDNA合成。

2. 高热稳定性

50°C条件下进行逆转录反应。

3. 可对RNA的整个区域进行均一的逆转录反应

采用了最适用于RealTimePCR用cDNA合成的反应buffer和按最佳比例混合的Primermix (Oligo dT 及 Random Primer)，可对RNA的整个区域进行均一、高效率的逆转录。

4. 与Real Time PCR试剂的高适应性

采用了对Real Time PCR的反应体系影响最小的组分，即便向PCR反应液中加入最多20%液量的逆转录反应液，也能显示出很好的线性。因此，该试剂盒适用于低丰度mRNA的检测。

注意事项

1. 本产品采用热敏型DNase，请务必将5×HiFiScript All-in-one qRT Master Mix置于冰上。
2. 5×HiFiScript All-in-one qRT Master Mix使用前请短暂离心收集至管底，并用移液器轻轻吹打充分混匀后，准确吸取。
3. 在操作过程中应避免RNase污染，用于逆转录反应和PCR反应的RNase-Free Water，建议和用于其它实验的RNase-Free Water分开保存，避免共用。

使用说明

RNA的变性（可选步骤）*

把RNA在65°C条件下热变性5分钟后，立即置于冰上冷却。

*在经过以上步骤的处理后，可提高含有二级结构RNA的逆转录效率，初次实验时，建议探讨条件。

去除基因组DNA反应和逆转录反应

1. 请在冰上配制如下反应液。

组分	20 μ L体系	终浓度
5 \times HiFiScript All-in-one qRT Master Mix	4 μ L	1 \times
RNA template	X μ L	10pg-1 μ g
RNase-Free Water	Up to 20 μ L	

·本产品是含有逆转录引物 (Random Primer及Oligo dT Primer) 的预混试剂, 不能使用基因特异性引物 (Gene Specific Primer)。

2. 将反应液轻轻地搅拌均匀后, 按以下温度进行反应。

温度	时间	反应
50 $^{\circ}$ C	15min	去 gDNA+逆转录反应
85 $^{\circ}$ C	5sec	酶失活反应
4 $^{\circ}$ C	∞	hold

3. 反应结束后, 请在4 $^{\circ}$ C或-20 $^{\circ}$ C (长期) 条件下保存, cDNA应避免反复冻融。Real Time PCR时, 作为模板直接或稀释后添加。

·添加到Real Time PCR反应液中的逆转录反应液, 请最多不要超过20%。过量的添加会导致Real Time PCR反应效率低下, 无法准确地定量。

产品详细说明书请登录康为世纪官网www.cwbio.com搜索“CW3371”查看