



HiFiScript SuperFast gDNA Removal cDNA Synthesis Kit

Cat.No. CW3406

产品简介

本产品可完成去除基因组DNA与逆转录反应，该试剂盒在42℃ 2 min即可除去基因组DNA。本产品配有新型高效反转录酶，新颖突变位点大幅提升酶的转录活性。本产品进一步提高了逆转录效率，仅需5 min便可合成长片段cDNA。4×HiFiScript RT Superfast Mix预混了逆转录酶、dNTP Mix、RNase inhibitor等，反应时只需要根据下游实验添加适当的逆转录引物便可高效合成cDNA，操作方便快捷。本试剂盒适用于第一链cDNA的合成、长片段cDNA扩增和下游qPCR定量反应，可进行高效的基因表达分析。

保存条件

-20±5℃

产品内容

Component	CW3406S 10 rxns	CW3406M 100 rxns
10 × gDNA wiper Mix	10 μL	100 μL
4×HiFiScript RT Superfast Mix	50 μL	500 μL
Oligo (dT) Primer	10 μL	100 μL
Random Primer	10 μL	100 μL
Primer Mix	10 μL	100 μL
RNase-Free Water	1 mL	1 mL

产品特点

- 1. 高热稳定性：50℃下进行反应。
- 2. 反应时间短：只需5 min便可完成逆转录反应。
- 3. 灵敏度高：可利用pg级总RNA或mRNA模板合成cDNA第一链。
- 4. 高兼容性：与qPCR、PCR试剂的高兼容性。
- 5. 高效的逆转录效率：新颖突变位点大幅提升酶活性能，获得更高产量的cDNA。

注意事项

- 1. 在操作过程中应避免RNase污染，防止RNA降解或实验中的交叉污染，建议操作人员戴口罩和一次性手套并经常更换手套，使用专门的仪器和耗材。
- 2. 实验尽量使用一次性塑料器皿，若使用玻璃器皿，应使用0.1%DEPC（焦碳酸二乙酯）水溶液在37℃处理12小时，并在120℃下高压灭菌30分钟后使用，或者将玻璃器皿在180℃下干热灭菌60分钟后使用。实验中用到的无菌水使用0.1%的DEPC 处理后进行高压灭菌。
- 3. 逆转录体系配制在冰上进行操作，防止RNA发生降解。试剂盒使用后尽快置于-20 °C保存。

使用方法

将模板RNA在冰上解冻，试剂盒组分置于冰上。使用前将每种溶液用移液器缓慢吹打或颠倒混匀，并经短暂离心后使用。

- 1. 后续实验为PCR
将RNA模板、10 × gDNA wiper Mix 、4×HiFiScript RT Superfast Mix、Oligo (dT) Primer 和RNase-Free Water 置于冰上备用。
- 1.1 去除基因组DNA反应¹⁾

试剂	10 μL反应体系	终浓度
10 × gDNA wiper Mix	1	1x
RNA Template ²⁾	X μL	
RNase-Free Water	up to 10 μL	

注意:

- 1) 若不需去除基因组DNA, 此过程可省略。
- 2) 通常 RNA 模板的量以 10 pg-1μg 为参照, 建议加入不超过5 μg的Total RNA。如果目的基因表达量非常低, 可根据后续实验结果增加RNA浓度。如果目的基因表达量较高, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。

用移液器吹打混匀, 短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。
42℃孵育2 min, 反应结束后, 短暂离心, 置于冰上冷却。

1.2 逆转录反应

试剂	20 μL反应体系	终浓度
步骤1反应液	10	
Oligo (dT) Primer *	1	
4×HiFiScript RT Superfast Mix	5	1x
RNase-Free Water	up to 20μL	

* 亦可使用基因特异性引物(2 pmol)进行逆转录。
用移液器吹打混匀混匀, 短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。
cDNA合成反应条件: 50℃孵育5 min (如需获得更多的cDNA产物, 可将反应时间延长至30 min) , 85℃孵育5s。
产物可立即用于PCR反应, 或在-20℃保存, 并在半年内使用; 长期存放建议分装后在-70℃保存。cDNA应避免反复冻融。

2. 后续实验为qPCR

将RNA模板、10 × gDNA wiper Mix 、4×HiFiScript RT Superfast Mix、Primer Mix和RNase-Free Water 置于冰上备用。

2.1 去除基因组DNA反应¹⁾

试剂	10 μL反应体系	终浓度
10 × gDNA wiper Mix	1	1x
RNA Template ²⁾	X μL	
RNase-Free Water	up to 10 μL	

注意:

- 1) 若不需去除基因组DNA, 此过程可省略。
- 2) 通常 RNA 模板的量以 10 pg-1μg 为参照, 建议加入不超过5 μg的Total RNA。如果目的基因表达量非常低, 可根据后续实验结果增加RNA浓度。如果目的基因表达量较高, 可对模板进行梯度稀释, 以确定最佳的模板使用量。

用移液器吹打混匀, 短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。

42℃孵育2 min, 反应结束后, 短暂离心, 置于冰上冷却。

2.2 逆转录反应

试剂	20 μL反应体系	终浓度
步骤1反应液	10	
Primer Mix*	1	
4×HiFiScript RT Superfast Mix	5	1x
RNase-Free Water	up to 20 μL	

* Primer Mix由Oligo(dT) Primer 和Random primer配制而成, 如不需要使用Oligo(dT) Primer, 该组分可选择Random primer; 亦可使用基因特异性引物(2 pmol)进行逆转录。

用移液器混匀, 短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。

cDNA合成反应条件: 50℃孵育5 min (如需获得更多的cDNA产物, 可将反应时间延长至15 min), 85℃孵育5s。

产物可立即用于qPCR反应, 或在-20℃保存, 并在半年内使用; 长期存放建议分装后在-70℃保存。cDNA应避免反复冻融。