

# HiScript® II Q Select RT SuperMix for qPCR

R232

Version 21.1



## 产品概述

HiScript II Reverse Transcriptase是在M-MLV (RNase H-) Reverse Transcriptase基础上通过体外分子进化技术得到的全新逆转录酶, 大幅提高了热稳定性和cDNA合成效率。HiScript II Q Select RT SuperMix for qPCR适用于两步法qRT-PCR检测, 5 × HiScript II Select qRT SuperMix中含有Buffer、dNTP、HiScript II Reverse Transcriptase以及RNase inhibitor, 可根据需要, 选择Oligo (dT)<sub>23</sub>VN、Random primers或基因特异引物作为逆转录引物。Oligo (dT)<sub>23</sub>VN比Oligo (dT)<sub>18</sub>对于Poly A<sup>+</sup> mRNA的锚定能力更强, 使得逆转录效率更高。5 × HiScript II Select qRT SuperMix在-20°C不会冻结, 加入模板RNA和引物即可迅速进行反应。

逆转录产物兼容SYBR Green和探针法qPCR, 可以根据实验目的, 选择相应的试剂配合使用, 进行高性能的基因表达分析。

## 产品组分

组 分	R232-01 100 rxns (20 µl/rxn)
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	2 × 1 ml
5 × HiScript II Select qRT SuperMix <sup>a</sup>	400 µl
Oligo (dT) <sub>23</sub> VN (10 µM)	100 µl
Random hexamers (50 ng/µl)	100 µl
5 × Select No RT Control Mix <sup>b</sup>	40 µl

a. 包含Buffer、dNTP、HiScript II Reverse Transcriptase、RNase inhibitor。

b. 除不含HiScript II Reverse Transcriptase外, 其余成分与5 × HiScript II Select qRT SuperMix相同, 用于配制No RT对照反应。

## 保存条件

-30 ~ -15°C保存, ≤0°C运输。

## 适用范围

本产品广泛适用于动物, 植物以及微生物RNA的逆转录反应, 逆转录产物兼容染料法和探针法qPCR。

## 实验准备和指南

### 自备材料

- RNase-free 1.5 ml离心管、0.2 ml PCR管、移液器吸头
- 移液器; PCR仪; 冰或移动冰盒

### RNA

- 高质量的完整的RNA对于获得高质量的cDNA是至关重要的。实验前请验证RNA的完整性。

### qPCR试剂选择指南

- 第一链cDNA产物可直接用作qPCR反应的模板。建议作为模板的cDNA产物的体积不超过qPCR反应体积的1/10。可选择AceQ qPCR SYBR Green Master Mix (Vazyme #Q111)、AceQ qPCR Probe Master Mix (Vazyme #Q112)或ChamQ SYBR qPCR Master Mix (Vazyme #Q311)作为qPCR试剂。

## 注意事项

1. 5 × HiScript II Select qRT SuperMix及5 × Select No RT Control Mix含有高浓度的甘油，在使用前请短暂离心收集到反应管底部，并用移液枪轻轻反复吸打充分混匀后，准确吸取。
2. 20 μl逆转录反应体系建议加入不超过1 μg的Total RNA。如果目的基因表达量非常低，最多加入5 μg Total RNA，否则加入RNA量过高，可能会超出后续定量PCR的线性范围。
3. 如果加入RNA模板体积较大(如超过2 μl)，请确保RNA是溶于水而不是TE中，因为TE中的EDTA会对逆转录反应产生抑制。
4. 如果在qPCR实验中发现No RT Control的C<sub>T</sub>值与实验组相差<5，则说明RNA模板有可能受到基因组DNA的污染。此时，可选HiScript II Q Select RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (Vazyme #R233-01)，以彻底消除基因组DNA的背景。
5. cDNA产物仅适用于qPCR反应，不适用于用于克隆等下游实验的长片段PCR扩增。如有需要，可使用HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme #R211)进行操作。

## 实验流程

### 1. 配制第一链cDNA合成反应液

在RNase-free离心管中配制如下混合液：

RNase-free ddH <sub>2</sub> O	to 20 μl
5 × HiScript II Select qRT SuperMix	4 μl
Oligo (dT) <sub>23</sub> VN (10 μM)	
or Random hexamers (50 ng/μl)	1 μl
or Gene specific primers (2 μM)	
模板RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μg

用移液器轻轻吹打混匀。

### No RT Control反应(可选)

No RT Control是指不加逆转录酶的逆转录阴性对照反应，用于检验RNA模板中是否有基因组DNA残留。

在RNase-free离心管中配制如下混合液：

RNase-free ddH <sub>2</sub> O	to 20 μl
5 × Select No RT SuperMix	4 μl
Oligo (dT) <sub>23</sub> VN (10 μM)	
or Random hexamers (50 ng/μl)	1 μl
or Gene specific primers (2 μM)	
模板RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μg

用移液器轻轻吹打混匀。

### 2. 进行逆转录反应

50°C*	15 min
85°C	5 sec

\* 如果模板具有复杂二级结构或高GC区域，可将反应温度提高至55°C，有助于提高产量。

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

\*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。