

HiScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)

R323

Version 22.1



产品概述

HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)是HiScript II Q RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)的升级版本, 包含新一代逆转录酶HiScript III Reverse Transcriptase和针对逆转录优化的最适Buffer, 进一步提高了cDNA合成的效率, 适用于两步法qRT-PCR检测。试剂盒中的4 × gDNA wiper Mix可彻底去除RNA模板中残留的基因组DNA, 保证后续定量结果更加可靠, 并可简化qPCR引物设计, 无需跨内含子设计引物; 5 × HiScript III qRT SuperMix中含有逆转录反应所需的所有组分, 加入模板RNA和水即可迅速进行反应, 同时终止gDNA wiper作用, 保证cDNA的完整性。逆转录产物兼容染料法与探针法qPCR, 可进行高性能的基因表达分析。

产品组分

组 分	R323-01 100 rxns (20 µl/rxn)
□ RNase-free ddH ₂ O	2 × 1 ml
■ 4 × gDNA wiper Mix	400 µl
■ 5 × HiScript III qRT SuperMix ^a	400 µl
■ 5 × No RT Control Mix ^b	40 µl

a. 包含Buffer、dNTP、HiScript III Reverse Transcriptase、RNase inhibitor、Random primers/Oligo(dT)₂₀VN primer mix。

b. 除不含HiScript III Reverse Transcriptase外, 其余成分与5 × HiScript III 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。

自备材料

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RNA对于获得高质量的cDNA至关重要。实验前请用电泳验证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 Universal U⁺ Probe Master Mix V2(Vazyme #Q513)或ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(Vazyme #Q711)作为qPCR试剂。

注意事项

- 4 × gDNA wiper Mix、5 × HiScript III qRT SuperMix及5 × 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，并用移液枪轻轻吸打充分混匀后，准确吸取。
- 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。
- cDNA产物仅适用于qPCR反应，不适用于克隆等下游实验的长片段PCR扩增。如有需要，可使用HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA wiper)(Vazyme #R312)进行操作。
- 可以不经过去除步骤，直接用5 × HiScript III qRT SuperMix进行逆转录，但是请勿将4 × gDNA wiper Mix与不含基因组去除模块的试剂配套使用，因为不含基因组去除模块的试剂盒中的Mix不含终止gDNA wiper反应的成分，有可能会影响后续的qPCR结果。

实验流程

1. 基因组DNA去除

在RNase-free离心管中配制如下混合液：

RNase-free ddH ₂ O	to 16 μl	□
4 × gDNA wiper Mix	4 μl	■
模板RNA	Total RNA: 1 pg - 1 μg	

用移液器轻轻吹打混匀。42℃ 2 min。

2. 配制逆转录反应体系

在第1步的反应管中直接加入5 × HiScript III qRT SuperMix

5 × HiScript III qRT SuperMix	4 μl	■
第1步的反应液	16 μl	

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：

5 × No RT Control Mix	4 μl	■
第1步的反应液	16 μl	

用移液器轻轻吹打混匀。

3. 进行逆转录反应

37℃*	15 min
85℃	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50℃，有助于提高产量。

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。

*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。