

# HiScript® II Q Select RT SuperMix for qPCR

R232-01

Version 5.1



Vazyme biotech co., ltd.

## 产品简介

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RT-qPCR检测，5 × Mix 中含有Buffer、dNTP Mix、HiScript® II Reverse Transcriptase以及RNase inhibitor，可根据需要，选择Oligo dT、Random primers或基因特异引物作为逆转录引物。5 × Mix在-20℃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AceQ® qPCR SYBR® Green Master Mix (Q111) 或AceQ® qPCR Probe Master Mix (Q112)等试剂配合使用，进行高性能的基因表达分析。

## 产品组成

组 分	R232-01 200 rxn (10 µl/rxn)
RNase free ddH <sub>2</sub> O	1 ml × 2
5 × HiScript® II Select qRT SuperMix <sup>a</sup>	400 µl
Oligo (dT) <sub>18</sub> (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 Mix、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，用于配置No RT对照反应。

## 储存条件

-20℃保存。

## 质量控制

所有组分经检测均无核酸外切酶，核酸内切酶，RNase残留。

功能检测：以1 pg-1 µg HeLa cell total RNA为模板，测试qRT-PCR性能。以6个数量级的模板量的对数值对Ct值做标准曲线，R<sup>2</sup>>0.990，斜率在-3.20到-3.60之间。

## 实验准备和指南

### 用户需要自行准备的材料

- RNase free的1.5 ml微量离心管或0.2 ml PCR管
- 水浴锅或PCR仪
- 冰

### RNA

- 高质量的完整的RNA对于获得高质量的cDNA是至关重要的。请用电泳验证RNA的完整性。

### qPCR指南

第一链cDNA产物可直接用作PCR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 (Q111) 或 AceQ® qPCR Probe Master Mix (Q112) 作为qPCR试剂。

## 应用实例

### 1. 在RNase free离心管中配制如下混合液

RNase free ddH <sub>2</sub> O	to 10 µl
5 × HiScript® II Select qRT SuperMix	2 µl
Oligo (dT) <sub>18</sub> (10 µM)	0.5 µl
or Random hexamers (50 ng/µl)	0.5 µl
or Gene specific primers (2 µM)	0.5 µl
模板RNA	Total RNA: 1 pg-500 ng

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 10 µl
5 × Select No RT SuperMix	2 µl
Oligo (dT) <sub>18</sub> (10 µM)	0.5 µl
or Random hexamers (50 ng/µl)	0.5 µl
or Gene specific primers (2 µM)	0.5 µl
模板RNA	Total RNA: 1 pg-500 ng

用移液器轻轻吹打混匀。

### 2. 进行逆转录反应

50 °C*	15 min
85 °C	2 min

\* 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PCR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-80 °C保存。cDNA应避免反复冻融。

## 注意事项

- 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。
- 10 µl逆转录反应体系建议加入不超过500 ng的Total RNA。如果目的基因表达量非常低, 最多加入1 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。反应体积可根据需要等比例放大。
- 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。
- 如果在qPCR实验中发现No RT Control的Ct值与实验组相差<5, 则说明RNA模板有可能污染了基因组DNA。此时, 可选择HiScript® II Q Select RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (R233-01), 以彻底消除基因组DNA的背景。