



StarScript II RT Mix with gDNA Remover

StarScript II 去基因组 DNA 反转录预混试剂

版本号: V230901

货号: A224
 保存: -20°C
 运输: 低温

货号	规格
A224-10	100 rxn

【产品概述】

本产品是专为两步法 RT-PCR 第一步实验设计的高灵敏度反转录反应预混体系。gDNA Remover 可以有效的去除 RNA 提取过程中残留的基因组 DNA, 处理后的样品可以直接用于后续实验。优化的反应体系 (5×StarScript II Buffer (with Primer)) 中预混了 Random Primer 和 Oligo18 (dT) Primer, 简化了加样操作步骤, 避免了操作误差和污染的风险; 本产品可以从极低量的总 RNA 或 poly (A) mRNA 合成第一链 cDNA, 合成的 cDNA 产量高, 对后续的 PCR 或 real time PCR 实验兼容性好, 适合于各种耐热 DNA 聚合酶。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A224-10
ZA224-101	StarScript II Enzyme Mix	100 μl
ZA224-102	5×StarScript II Buffer (with Primer)	400 μl
ZA224-103	gDNA Remover	100 μl
ZA224-104	5×gDNA Remover Buffer	200 μl
ZA220-101	Nuclease-free Water (DEPC-treated)	1.5 ml

【保存条件】

-20°C 保存, 保质期 24 个月。

【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. 使用时, 请务必将 StarScript II Enzyme Mix、5×StarScript II Buffer (with Primer)、gDNA Remover 置于冰上。
3. 除酶以外的各种试剂, 使用之前请完全溶解并充分混匀, 以防因盐离子浓度不均影响实验结果。
4. RNA 模板的完整性对 cDNA 合成效率起着决定性作用, 因此请选择可靠的 RNA 提取/纯化方法。推荐使用 GenStar 总 RNA 提取试剂 (Cat#P118)、StarPure RNA 提取试剂盒 (Cat#P120) 或 StarSpin 柱式动物 RNA 提取试剂盒 (Cat#P133) 等制备高质量的 RNA 模板, 并设置反转录反应阳性对照。
5. 由于所有的 RNA 提取方法都不能完全去除基因组 DNA, 所以应根据后续实验的需求, 选择是否需要在反转录反应前去除残留基因组 DNA。本产品中的 gDNA remover 组分, 只需 5 min 即可除高效去基因组 DNA。
6. StarScript II Enzyme Mix 合成的第一链 cDNA 产物可直接加入 PCR 反应混合物中进行扩增, 但加入体积不应超过 PCR 反应总体系的 10%, 否则可能影响目的片段的产量。PCR 扩增使用的耐热 DNA 聚合酶和热循环条件需要根据目的片段的大小、GC 含量、引物特性、以及对保真度的要求等进行选择。
7. 第一链 cDNA 合成产物经过处理后可作为第二链合成的模板, 合成含各种标记的 cDNA, 作为杂交实验的探针。
8. RNA 可置于 -70°C 以下长期保存, cDNA 合成产物可置于 -20°C 保存。



【操作步骤】

1. 去除 RNA 中基因组 DNA 残留:

组分	体积
RNA 模板 ^a	≤ 1 μg total RNA 或 ≤ 0.1 μg poly(A) mRNA
5×gDNA Remover Buffer	2 μl
gDNA Remover	1 μl
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 10 μl

^a采用自备的序列特异性引物时, RNA 模板的量可调整为 “≤5 μg total RNA 或 ≤0.5 μg poly(A) mRNA”。

混匀, 并短暂离心, 反应条件为 37°C, 5 min。

2. 在上述的反应管中, 直接添加如下的反转录反应所需组分, 进行第一链 cDNA 的合成步骤:

组分	体积
gDNA Remover 处理后 RNA 样品	10 μl
5×StarScript II Buffer (with Primer)	4 μl
StarScript II Enzyme Mix	1 μl
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 20 μl

3. 轻轻混匀, 短暂离心; 42°C 孵育 15-50 min。

注: 复杂模板逆转录温度可升高至 50°C, 提高反转录效率。

反应时间可根据实验应用场景做适当调整。如合成的 cDNA 用作 qPCR 模板, 则反应条件为 42°C 孵育 15 min。

4. 85°C 加热 5 min 失活 StarScript II Enzyme Mix。

5. 反应结束后所得的 cDNA, 请置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。