



# StarScript III Reverse Transcriptase

## StarScript III 反转录酶

版本号: V220201

货号: A231

保存: -20°C

运输: 低温

| 货号      | 规格      |
|---------|---------|
| A231-01 | 2000 U  |
| A231-05 | 10000 U |

### 【产品概述】

StarScript III 反转录酶是 StarScript II 反转录酶的升级版。与 StarScript II 反转录酶相比, StarScript III 反转录酶具有更高的热稳定性,对于复杂二级结构和高 GC 含量靶标,可将逆转录温度提高至 55-60°C,克服 RNA 复杂二级结构对 cDNA 合成的抑制,有效合成高质量的 cDNA;另外 StarScript III 反转录酶 cDNA 合成能力更高,非常适合少量模板以及低拷贝基因的逆转录。

### 【产品组分】

| 组分                             | A231-01 | A231-05 |
|--------------------------------|---------|---------|
| StarScript III RTase (200U/μl) | 10 μl   | 50 μl   |
| 5×RTase III Buffer             | 50 μl   | 250 μl  |

### 【保存条件】

-20°C保存,保质期 24 个月。

### 【活性定义】

一个活性单位的反转录酶定义为在 37°C、10 min 条件下,使 1 nmol 的脱氧核糖核酸掺入酸性沉淀物质所需的酶量。

### 【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. RNA 模板的完整性对 cDNA 合成效率起着决定性作用,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) 及 StarSpin 柱式超纯动物 RNA 小提试剂盒 (Cat#P132 等) 制备高质量的 RNA 模板,并设置反转录反应阳性对照。
3. 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。推荐采用去除基因组 DNA 的反转录试剂盒 (Cat#A224) 进行反转录实验。
4. StarScript III RTase 以 RNA 为模板获得第一链 cDNA,其起始位点由所使用的引物决定:
  - 1) 随机引物 (Random Primer) 在 RNA 模板上随机结合;
  - 2) Oligo18 (dT) Primer 只能以 poly(A) mRNA 作为 cDNA 合成的模板;
  - 3) 序列特异性引物 (GSP) 以其特异性结合位点为起始位点。
5. StarScript III RTase 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。
6. 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。
7. RNA 应置于 -70°C 以下保存, cDNA 合成产物应置于 -20°C 保存。



### 【简化操作流程】

注：此简化流程适用于 qPCR 实验中的反转录步骤。

1. 在 DNase/RNase-free 离心管中加入下列成分：

| 组份                                 | 体积                                       |
|------------------------------------|--|
| 5×RTase III Buffer                 | 4 μl                                     |
| RNase Inhibitor (40U/μl)           | 0.5 μl                                   |
| dNTPs Mix (10mM Each)              | 1 μl                                     |
| RNA 模板                             | ≤ 1 μg total RNA 或 ≤ 0.1 μg poly(A) mRNA |
| 引物                                 | 1 μl*                                    |
| StarScript III RTase (200U/μl)     | 1 μl                                     |
| Nuclease-free Water (DEPC-treated) | 补足至 20 μl                                |

\* 根据不同的实验目的，引物可选择加入 1 μl Oligo18 (dT) 或者 1 μl Random Primer，或者将 Oligo18 (dT) 和 Random Primer 按照一定的比例混匀后取 1 μl 混合引物加入。也可以根据实验需要，加入 1 μl 自备的序列特异性引物（浓度 20 μM）。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”。

2. 轻轻混匀，短暂离心；  
如用 Oligo18 (dT) 或序列特异性引物，50°C 孵育 15 min；  
如用 Random Primer（或含有 Random Primer 的混合引物），25°C 孵育 10 min，50°C 孵育 15 min。  
注：复杂模板逆转录温度建议提高至 55-60°C。反应时间可根据实验应用场景做适当调整。
3. 85°C 加热 5 min 使酶失活；
4. 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。

### 【标准操作流程】

注：按此步骤操作有助于打开复杂 RNA 模板的二级结构，提高反转录效率、增加 cDNA 产物的长度。

1. 在 DNase&RNase-free 离心管中依次加入下列成分：

| 组份                                 | 体积                                   |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| RNA 模板                             | ≤ 1 μg 总 RNA 或 ≤ 0.1 μg poly(A) mRNA |
| 引物                                 | 1 μl*                                |
| dNTPs Mix (10mM Each)              | 1 μl                                 |
| Nuclease-free Water (DEPC-treated) | 补足至 10 μl                            |

\* 根据不同的实验目的，引物可选择加入 1 μl Oligo18 (dT) 或者 1 μl Random Primer，或者将 Oligo18 (dT) 和 Random Primer 按照一定的比例混匀后取 1 μl 混合引物加入。也可以根据实验需要，加入 1 μl 自备的序列特异性引物（浓度 20 μM）。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”。

2. 65°C 孵育 5 min，再立即冰浴 2 min。
3. 在上述反应管中依次加入下列成分：

| 组份                                 | 体积        |
|------------------------------------|-----------|
| 步骤 2 处理后的反应液                       | 10 μl     |
| 5×RTase III Buffer                 | 4 μl      |
| RNase Inhibitor (RNasin)           | 0.5 μl    |
| StarScript III RTase (200U/μl)     | 1 μl      |
| Nuclease-free Water (DEPC-treated) | 补足至 20 μl |

4. 轻轻混匀，短暂离心，进行逆转录反应。  
如用 Oligo18 (dT) 或序列特异性引物，50°C 孵育 30-50 min；  
如用 Random Primer，25°C 孵育 10 min，50°C 孵育 30-50 min。  
注：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 50°C 孵育 15 min，见【简化操作流程】。
5. 85°C 加热 5 min 使酶失活；
6. 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。