



StarScript III RT Kit

StarScript III反转录试剂盒

版本号: V251201

货号: A232

保存: -20℃

运输: 低温

货号	规格
A232-02	20 rxn
A232-10	100 rxn

【产品概述】

本试剂盒基于 StarScript III 反转录酶开发的 cDNA 第一链合成试剂盒。其中 StarScript III 反转录酶比 StarScript II 反转录酶具有更高的热稳定性, 对于复杂二级结构和 GC 含量高的 RNA 模板, 可将逆转录温度提高至 55-60℃, 克服 RNA 复杂二级结构对 cDNA 合成的抑制, 有效合成高质量 cDNA; 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。

本试剂盒中包含由总 RNA 或 mRNA 合成高质量第一链 cDNA 所需的所有成分, 并提供两种 cDNA 合成引物: Random Primer 和 Oligo18 (dT) 的预混液 Primer Mix, 合成的 cDNA 产物可直接用来进行后续 PCR 或者 qPCR 反应。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A232-02	A232-10
ZA232-101	StarScript III Enzyme Mix	20 µl	100 µl
ZA232-102	2×StarScript III Buffer	200 µl	1 ml
ZA232-103	Primer Mix	20 µl	100 µl
ZA220-101	Nuclease-free Water (DEPC-treated)	1 ml	1.5 ml

【保存条件】

-20℃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. 各个组分在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。
3. 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。
4. 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。
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 可置于 -70℃ 以下长期保存, cDNA 合成产物可置于 -20℃ 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：

组分	体积
RNA 模板	≤1 μg total RNA 或 ≤0.1 μg poly(A) mRNA
Primer Mix	1 μl ^a
2×StarScript III Buffer	10 μl
StarScript III Enzyme Mix	1 μl
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 20 μl

^a 根据不同的实验目的，引物可选择加入试剂盒自带的 Primer Mix，或是加入自备的 1 μl Oligo18 (dT) 或 1 μl Random Primer。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；50℃孵育 15 min。

注：复杂模板逆转录温度建议提高至 55-60℃。

反应时间可根据实验应用场景做适当调整。如后续做 PCR 实验，建议引物用 Oligo18 (dT)，反应条件调整为 50℃孵育 50 min。

3. 85℃加热 5 min 失活 StarScript III Enzyme Mix。
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. 按照下表配制反应体系

组分	体积
RNA 模板	≤1 μg total RNA 或 ≤0.1 μg poly(A) mRNA)
Primer Mix	1 μl ^b
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 9 μl

^b 根据不同的实验目的，引物可选择加入试剂盒自带的 Primer Mix，或是加入自备的 1 μl Oligo18 (dT) 或 1 μl Random Primer。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℃孵育 5 min，再立即冰浴 2 min。

注：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。

3. 在上述反应管中加入反转录反应液，总体积为 20 μl。

组分	体积
步骤 2 处理后的反应液	9 μl
2×StarScript III Buffer	10 μl
StarScript III Enzyme Mix	1 μl
总反应体系	20 μl

4. 轻轻混匀，短暂离心，25℃孵育 10 min，50℃孵育 30-50 min。

注：复杂模板逆转录温度可升高至 55-60℃，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 50℃孵育 15 min，见【简化操作流程】。

5. 85℃加热 5 min 失活 StarScript III Enzyme Mix。
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。