



StarScript III RT Mix with gDNA Remover

StarScript III 去基因组 DNA 反转录预混试剂

版本号: V220201

货号: A234
 保存: -20°C
 运输: 低温

货号	规格
A234-02	20 rxn
A234-10	100 rxn

【产品概述】

本产品是用于去除基因组 DNA 进行反转录的试剂盒。该试剂盒在 37°C, 5 min 即可除去基因组 DNA, 反转录试剂中含有抑制 gDNA Remover 的组分, 去基因组处理后的 RNA 样品可以直接进行后续逆转录反应。本试剂盒采用 StarScript III 反转录酶, 热稳定性和逆转录效率更高, 可用于 pg 级总 RNA 或 poly(A) mRNA 合成第一链 cDNA。适用于有基因组污染的 RNA 模板 cDNA 第一链合成, cDNA 产物可用于下游 PCR 或荧光定量 PCR 检测。

【产品组分】

组分名称	A234-02	A234-10
StarScript III Enzyme Mix	20 µl	100 µl
5×StarScript III Buffer (with Primer)	80 µl	400 µl
gDNA Remover	20 µl	100 µl
5×gDNA Remover Buffer	40 µl	200 µl
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	1 ml	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 III 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) 或 StarSpin 柱式超纯动物 RNA 小提试剂盒 (Cat#P132) 制备高质量的 RNA 模板, 并设置反转录反应阳性对照。
5. 所有的 RNA 提取方法都不能完全去除基因组 DNA, 因此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 III 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	≤ 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

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 III Buffer (with Primer)	4 μl
StarScript III Enzyme Mix	1 μl
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 20 μl

3. 轻轻混匀, 短暂离心; 50°C 孵育 15-50 min。

注: 复杂模板逆转录温度可升高至 55-60°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 50°C 孵育 15 min。

4. 85°C 加热 5 min 失活 StarScript III 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。