



StarScript III RT SuperMix for qPCR(with gDNA Remover)

StarScript III qPCR 专用反转录超级预混液（含基因组去除）

版本号: V260401

货号: A241
保存: -20°C
运输: 低温

货号	规格
A241-02	20 rxn
A241-10	100 rxn

【产品概述】

StarScript III RT SuperMix for qPCR(with gDNA Remover)包含了基因组去除和反转录反应所需的全部组分,其中 gDNA Remover Mix 组分,只需 5 min 即可除高效去基因组 DNA; 5×StarScript III Mix(with Primer)含有 StarScript III 反转录酶,优化了反应 Buffer 和 Oligo dT Primer、Random Primer 用量,对植物 RNA 模板和动物 RNA 模板均有较高的反转录效率, RNA 模板的线性扩增范围宽,从 ng 级至 μg 级总 RNA 模板均可进行良好反转录反应; 本试剂盒含有 5×No RT Control Mix,用于检验 RNA 模板中是否有基因组 DNA 残留。

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。本产品适用于 RNA 模板的去基因组反转录反应,是一款高效、稳定并且可以快速去除基因组污染的反转录试剂,能够帮助您进行高效的基因表达分析。

我们提供了两种不同的操作方法,用户可根据需求进行选择: ①方法一: 两步法(先去除 gDNA, 然后进行反转录)若提取的 RNA 中 gDNA 残留过多或对 gDNA 去除效果要求更高,建议使用此方法。②方法二: 一步法(去除 gDNA 与反转录反应在一管中同时进行)当 RNA 纯度较高(gDNA 残留少),或反应中 RNA 浓度较高、目标基因拷贝数高时,可选用此方法,操作简便、快捷,可简化实验操作步骤,缩短实验时长。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A241-02	A241-10
ZA241-101	gDNA Remover Mix ^a	48 μl	240 μl
ZA241-102	5×StarScript III Mix (with Primer) ^b	80 μl	400 μl
ZA241-103	5×No RT Control Mix ^c	16 μl	80 μl
ZA220-101	Nuclease-free Water (DEPC-treated)	1 ml	1.5 ml

^agDNA Remover Mix 可搭配 5×StarScript III Mix (with Primer)或 5×No RT Control Mix 使用。

^b该溶液含有 StarScript III 反转录酶、RNase Inhibitor、dNTPs、Oligo dT Primer 与 Random Primer。

^c该溶液不含 StarScript III 反转录酶,其余组分与 5×StarScript III Mix (with Primer)相同。

【保存条件】

-20°C 保存,保质期 18 个月。

【注意事项】

- 5×StarScript III Mix (with Primer)、gDNA Remover Mix、5×No RT Control Mix 甘油浓度较高,使用前请轻柔上下颠倒混匀,避免起泡,并短暂离心将所有溶液收集到离心管底部,减少损失。
- 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 柱式动物 RNA 提取试剂盒 (Cat#P133) 制备高质量的 RNA 模板,并设置反转录反应阳性对照。
- cDNA 合成产物仅适用于 qPCR 反应,不适用于克隆等下游实验的长片段 PCR 扩增。
- 所有反应混合液建议在冰上配制,实验过程中请注意避免 RNase 污染。
- RNA 可置于 -70°C 以下长期保存, cDNA 合成产物可置于 -20°C 保存。
- No RT Control 反应(选做) No RT Control 指的是不加反转录酶的反转录阴性对照反应,用于检验 RNA 模板中是否有基因组 DNA 残留。



【操作步骤】

本产品提供了两种使用方法，操作者可根据需求进行选择，具体操作方法如下：

方法一：两步法（先去除 gDNA，然后进行反转录）

1. 去除 RNA 中基因组 DNA 残留：

组分	体系 1 ^d	体系 2 ^d
RNA 模板 ^e	-	-
gDNA Remover Mix	2 μ l	2 μ l
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 10 μ l	补足至 16 μ l

^d体系1反应体积为10 μ l，体系2反应体积为16 μ l可按需求进行选择。若RNA浓度较低，可选择体系2，若RNA浓度较高，体系1与体系2均可选择。

^e模板用量 \leq 5 μ g total RNA或 \leq 0.5 μ g poly(A) mRNA，可根据需要添加。

混匀，并短暂离心，反应条件为37 $^{\circ}$ C，5 min。

2. 将上述的反应管瞬时离心后置于冰上，根据下表加入逆转录反应所需组分：

组分	体系 1 ^f	体系 2 ^f
gDNA Remover 处理之后 RNA 样本	10 μ l	16 μ l
5 \times StarScript III Mix (with Primer) ^g	4 μ l	4 μ l
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 20 μ l	--

^f上一步去gDNA操作如按体系1配制体系，该步骤需要DEPC水补足20 μ l反应体系，如按照体系2配置则无需加入DEPC水，只需加入4 μ l 5 \times StarScript III Mix (with Primer)即可。

^g选做 No RT Control 反应时，将 5 \times StarScript III Mix (with Primer)用 5 \times No RT Control Mix 替换即可。

3. 用移液器轻轻吹打，短暂离心；50 $^{\circ}$ C孵育 15-50 min，85 $^{\circ}$ C加热 5 s。

注：复杂模板反转录温度可升高至 55-60 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C孵育 15 min，85 $^{\circ}$ C加热 5 s。

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。

方法二：一步法（去除 gDNA 与反转录反应同时进行）

当 RNA 纯度较高（gDNA 残留少），或反应中 RNA 浓度较高、目标基因拷贝数高时，可将去除 gDNA 与反转录合为一步操作。

1. 按照下表在冰上配制反应液，同时进行 gDNA 去除与反转录反应。

组分	体积
RNA 模板 ^h	-
gDNA Remover Mix	2 μ l
5 \times StarScript III Mix (with Primer) ⁱ	4 μ l
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 20 μ l

^h模板用量 \leq 5 μ g total RNA 或 \leq 0.5 μ g poly(A) mRNA，可根据需要添加。

ⁱ选做 No RT Control 反应时，将 5 \times StarScript III Mix (with Primer)用 5 \times No RT Control Mix 替换即可。

2. 用移液器轻轻吹打，短暂离心；50 $^{\circ}$ C孵育 15-50 min，85 $^{\circ}$ C加热 5 s。

注：复杂模板反转录温度可升高至 55-60 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C孵育 15 min，85 $^{\circ}$ C加热 5 s。

3. 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。