



## StarScript III One-Step qRT-PCR SYBR Kit (UNG) StarScript III 一步法 qRT-PCR 试剂盒-染料法 (UNG)

版本号: V220401

货号: A336  
保存: -20°C  
运输: 低温

货号	规格
A336-01	100 rxn
A336-10	1000 rxn

### 【产品概述】

StarScript III One-Step qRT-PCR SYBR Kit (UNG)是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行一步法实时荧光定量检测的专用试剂盒。使用本制品进行 Real Time RT-PCR 反应时以提取的 RNA 为模版, 在同一反应管内连续进行反转录和荧光定量检测, 操作简单, 并能有效防止污染。本产品内含高效的 StarScript III 反转录酶, 热稳定性大幅度提高, 可耐受高达 65°C 的反应温度。同时搭配抗体型 HotStart Taq DNA 聚合酶、配合优化的 Buffer 体系, 在提高检测灵敏度的同时保证了扩增的特异性, 非常适合于 RNA 病毒等微量目标基因的检测。

本产品使用时只需加入模板、引物、ROX Reference Dye (用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差, 根据不同荧光定量 PCR 仪选择使用) 和水, 使其工作浓度为 1×, 即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度地减少人为误差、节约 PCR 实验操作时间、降低污染几率。

本产品添加了优化比例的 dUTP, 在 Taq 酶的扩增过程中可以掺入到合成的 PCR 产物中。该方案特别适合于检测实验室, 用于防止 PCR 产物的气溶胶污染: 在使用 dUTP 体系的检测室, PCR 程序开始之前先用 UNG 酶 (已经预加在试剂盒中) 处理反应体系, UNG 酶可以特异性识别含有 dUTP 的 PCR 产物并酶切降解, 可以有效防止 PCR 产物的气溶胶污染。

### 【产品组分】

组分名称	A336-01	A336-10
StarScript III One-Step SYBR Enzyme Mix (UNG)	100 µl	1 ml
2×One-Step SYBR StarScript III Buffer (dUTP)	1 ml	5 ml×2
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	1 ml	5 ml×2
High ROX Reference Dye	40 µl	400 µl
Low ROX Reference Dye	40 µl	400 µl

\* 注: 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同:

需加 High ROX Reference Dye 的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。

需加 Low ROX Reference Dye 的机型: ABI Prism7500/7500 Fast, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye 的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

### 【保存条件】

-20°C 保存, 避光, 保质期 12 个月。

### 【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. 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。
3. 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。建议使用 GenStar 总 RNA 提取试剂和 StarSpin 柱式超纯动物 RNA 小提试剂盒 (Cat#P118、Cat#P132 等) 制备高质量的 RNA 模板。
4. 如果扩增片段较长或 RNA 结构复杂, 可以将 RNA 单独置于 65°C 加热 5-10 min 后再加入体系, 可提高反转录效率。
5. 制品只能使用特异性反转录引物, 不能使用 Random Primer 和 Oligo18 (dT) 等进行反转录反应。
6. 当同时需要进行数次 One Step qRT-PCR 反应时, 应先配制各种试剂的混合液, 然后分装到每个反应管中。这样, 可使所取的试剂体积更准确, 减少试剂损失, 避免重复分取同一试剂。同时也可以减少实验操作或实验样品之间产生的误差。
7. 使用 StarScript III One-Step SYBR Enzyme Mix (UNG) 时, 应轻轻混匀, 避免起泡; 分取之前要小心地离心收集到



反应管底部；由于酶保存液中含有 50% 的甘油，粘度高，分取时应慢慢吸取。-20℃ 保存，使用后立即放回冰箱。

### 【使用方法】

#### 1. 按照下表配制反应体系

组分	体积	终浓度
RNA 模板*	1-2 $\mu$ l	10 pg-100 ng
上游引物 GSP (10 $\mu$ M) **	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
下游引物 GSP (10 $\mu$ M) **	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
2×One-Step SYBR StarScript III Buffer (dUTP)	10 $\mu$ l	1 x
StarScript III One-Step SYBR Enzyme Mix (UNG)	1.0 $\mu$ l	-
High/Low ROX Reference Dye***	0.4 $\mu$ l	1 x
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足 20 $\mu$ l	

\* 以 HeLa 细胞 Total RNA 模板为例，20  $\mu$ l 反应体系中加入 Total RNA 的量为 10 pg-100 ng 为宜。建议将 RNA 样品稀释 5-10 倍后，取 2  $\mu$ l 加入 PCR 反应体系，以确保更小的移液误差。

\*\* 引物的终浓度可在 0.1  $\mu$ M-1  $\mu$ M 之间调整。

\*\*\* 请根据 real-time PCR 机器的型号，选择对应的 ROX Reference Dye。

#### 2. 反应设置

两步法流程	温度	时间	
UNG 酶处理	37°C	5 min	
反转录***	50°C	10 min	
预变性	94°C	2 min	
变性	94°C	15 sec	} 35-45 个循环
退火-延伸*	60°C	45-60 sec	

三步法流程**	温度	时间	
UNG 酶处理	37°C	5 min	
反转录***	50°C	10 min	
预变性	94°C	2 min	
变性	94°C	15 sec	} 35-45 个循环
退火	55-65°C	15 sec	
延伸	72°C	30 sec	

\* 当使用 ABI 仪器时，建议退火-延伸时间设置为 60 sec。

\*\* 当两步法扩增效率不好的时候建议选择三步法进行 qPCR 反应。

\*\*\* 复杂模板反转录温度可升高至 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。

#### 3. 在适当的 qPCR 仪器上完成实验，并分析结果。

### 【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。