



北京启衡星生物科技有限公司
BEIJING FOREVERSTAR BIOTECH CO.,LTD.

StarLighter Script RT all-in-one Mix

产品货号	单位规格
FS-P1001	2×200μL (100 rxns)

产品简介

StarLighter Script RT all-in-one Mix是一步法逆转录扩增实验的理想选择。5× StarLighter Script all-in-one Mix是针对第一链cDNA合成开发的试剂，包含合成第一链cDNA所需的全部组分（StarLighter Script RTase，RNA酶抑制剂，dNTPs，Oligo(dT)20，随机引物，以及各种缓冲组分），制品为预先混好的Premix形式，只需加入模板RNA和水便可迅速进行反应。StarLighter Script RTase为经过定向加工改造的性能更优异的逆转录酶，可无差别合成更高产量和更长的cDNA，并耐受55℃以上的高温，并具有更快的反应速度，更宽的模板使用范围，适合应用于一步法的逆转录。

产品组分

组分	FS-P1001	浓度	储存
5× StarLighter Script all-in-one Mix	2×200 μL (100 rxns)	4×	-20℃
Nuclease-Free Water	2×1mL	N/A	-20℃

注：请按照推荐的储存温度保存，避免反复冻融。

产品应用

- 1st Strand cDNA合成；
- 合成的1st Strand cDNA可广泛应用于2nd Strand cDNA合成、杂交、PCR/qPCR 扩增等。

产品特点

- 预混液含除RNA模板和水之外第一链cDNA合成所需的全部组分，操作简便，减少污染；
- 逆转录产物得率更高；
- 更快获得长cDNA片段；
- 更宽的模板使用范围。

第一链cDNA合成步骤

1. 根据下表推荐，依次加入以下组分：

5× StarLighter Script all-in-one Mix	4 μL
模板RNA*	200pg - 4 μg
Nuclease-Free Water	To 20 μL

*推荐采用试剂盒提取的RNA作为模板，并已去除DNA，推荐使用2μg以内。

2. 轻柔吹打混匀后，短暂离心

3. 反转录

程序	时间	说明
37℃*	20-30分钟	反转录
85℃	10 秒	终止反应

a、完整性非常好的模板，如RIN值在9以上的细胞系RNA或液氮保存并研磨提取的RNA，或反转录所用模板量较高（>1000ng），或所需产物区含GC含量过高的区域，可采用50℃-55℃的反转录15分钟；

b、对于完整性差的模板，如RIN值在8或以下的RNA，建议优先采用37℃反转录20-30分钟；

4. 将获得的cDNA迅速置于冰上，用于后续实验，或立即置于-20℃保存。

注意事项

- a. 应防止RNase污染，请保持实验区域洁净；操作时需穿戴干净的手套、口罩；实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证RNase free；
- b. 试剂盒预混液中包含比例优化的Oligo(dT)20 和随机引物，不仅适用于包含Poly (A) 结构的真核生物mRNA，也适用于不含Poly (A) 的原核生物mRNA，真核生物rRNA、tRNA等模板，但不适用于miRNA等小RNA模板；
- c. 5× StarLighter Script all-in-one Mix在使用前要小心地离心并收集到反应管底部，由于5× StarLighter Script all-in-one Mix的粘稠度高，使用前应确保产品已完全融化并充分混匀；
- d. 分装试剂时务必使用新的枪头，以防止样品间污染；
- e. 本制品中已经加入了反转录 Primer (Oligo dT Primer 和 Random 6 mers)，如果要使用 Gene Specific Primer 进行反转录反应，则不能使用本制品；
- f. 本制品不含去除基因组DNA的组份，如果需要去除基因组DNA，应在使用前对RNA模板进行DNA消化。

推荐qPCR 体系与条件

以 StarLighter SYBR Green qPCR Mix (货号FS-Q0002) 试剂20μL反应体系为例：

1. 按下列组份配制 PCR 反应液（反应液配制请在冰上进行）。

组分	体积	终浓度
H2O (PCR级)	至总体积10μL	N/A
StarLighter SYBR Green qPCR Mix (2X)	10 μL	1×
10 μM正向引物	0.5 -1 μL	250-500 nM
10 μM反向引物	0.5 -1 μL	250-500 nM
cDNA模板 ¹	按需	<20 ng
50× ROX Low2	0.2μL	1×
总体积	20 μL	N/A

1 建议在20 μl反应液中使用相当于 4 pg~40 ng Total RNA 量的 cDNA 为模板。反转录反应液的加入量不超过PCR反应液总体积的10%；

2 所有Applied Biosystems®仪器都需要使用ROX染料。Agilent Mx3000P™、 Mx3005P™ 和Mx4000™循环仪中ROX是可选的， Bio-Rad, Research, Cepheid, Corbett I Qiagen, Eppendorf, Illumina和Roche仪器不需要ROX染料。



启明东方 衡久未来

2. Real Time PCR反应程序参考下图设置

步骤	温度	时间	循环
酶激活	95℃	3min ¹	1
变性	95℃	10-30 sec	35-40
退火/延伸	60℃	≥20 sec ²	1
熔解曲线	根据仪器使用说明		

1 95℃处理20秒足以激活DNA聚合酶的活性，但是对于复杂模板的变性可能需要延长至3分钟。

2 选择适合仪器的最短退火/延伸时间，但不能少于20秒。对于3步法，根据仪器指南，在最佳退火温度下退火20秒，然后以最短时间在72℃进行数据采集。

北京启衡星生物科技有限公司

地址：北京市海淀区西直门外高粱桥斜街19号院3号楼209室

网址：www.qihengxing.com

Tel: 010-62149251

E-mail: sales@qihengxing.com marketing@qihengxing.com

support@qihengxing.com



扫码关注
了解更多产品信息