



## StarScript III One-Step qRT-PCR SYBR Kit

### StarScript III 一步法 qRT-PCR 试剂盒-染料法

版本号: V220401

货号: A333  
 保存: -20°C  
 运输: 低温

货号	规格
A333-01	100 rxn
A333-10	1000 rxn

#### 【产品概述】

StarScript III One-Step qRT-PCR SYBR Kit 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。基于 StarScript III 反转录酶、抗体型 HotStart Taq DNA 聚合酶、配合优化的 Buffer 体系, 对于二级结构复杂和 GC 含量高的 RNA 模板扩增效果好, 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。

#### 【产品组分】

组分名称	A333-01	A333-10
StarScript III One-Step SYBR Enzyme Mix	100 µl	1 ml
2×One-Step SYBR StarScript III Buffer	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者 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, 然后再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 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°C 保存, 使用后应立即放回冰箱。



## 【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 $\times$ One-Step SYBR StarScript III Buffer	10 $\mu$ l	1 x
StarScript III One-Step SYBR Enzyme Mix	1.0 $\mu$ l	-
High/Low ROX Reference Dye***	0.4 $\mu$ l	1 x
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补至 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	
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	
熔解曲线		机器预设	

三步法流程**	温度	时间	
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	
熔解曲线		机器预设	

\* 反应时间可根据实验应用场景做适当调整。如 PCR 产物长度在 80-200 bp, 此时采用 5 min 的反转录时间即可。  
复杂模板逆转录温度可升高至 55-60°C, 提高反转录效率。

\*\* 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。

### 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。