

SuperRT III Reverse Transcriptase

SuperRT III 反转录酶

产品编号	产品名称	规格
BL1017A	SuperRT III 反转录酶	2000U
BL1017B	SuperRT III 反转录酶	10000U

产品简介:

SuperRT III 反转录酶是升级版第三代反转录酶，与第二代反转录酶相比，SuperRT III 反转录酶具有更高的热稳定性，对于复杂二级结构和高 GC 含量靶标，可将反转录温度提高至 55-60°C，克服 RNA 复杂二级结构对 cDNA 合成的抑制，有效合成高质量的 cDNA，非常适合少量模板以及低拷贝基因的反转录。

产品组分:

组分名称	BL1017A	BL1017B
SuperRT III RTase (200U/μl)	10 μl	50 μl
5×RTase III Buffer	50 μl	250 μl

简化流程:

注：此简化流程适用于 qPCR 实验中的反转录步骤。

1. 在 DNase/RNase-free 离心管中加入下列成分:

组分	体积
5×RTase III Buffer	4 μl
RNase Inhibitor (40U/μl)	0.5 μl
dNTPs Mix (10mM Each)	1 μl
RNA 模板	≤ 1 μg total RNA 或 ≤ 0.1 μg poly(A) mRNA
引物	1 μl*
SuperRT III RTase (200U/μl)	1 μl
Nuclease-free Water	补足至 20 μl

注* 根据不同的实验目的，引物可选择加入 1 μl Oligo18 (dT) 或者 1 μl Random Primer，或者将 Oligo18 (dT) 和 Random Primer 按照一定的比例混匀后取 1 μl 混合引物加入。也可以根据实验需要，加入 1 μl 自备的序列特异性引物 (浓度 20 μM)。采用自备的序列特异性引物时，RNA 模板的量可调整为“≤ 5 μg total RNA 或 ≤ 0.5 μg poly(A) mRNA”。

2. 轻轻混匀，短暂离心；如用 Oligo18 (dT) 或序列特异性引物，50°C 孵育 15 min；如用 Random Primer (或含有 Random Primer 的混合引物)，25°C 孵育 10 min，50°C 孵育 15 min。

注：复杂模板反转录温度建议提高至 55-60°C。反应时间可根据实验应用场景做适当调整。

3. 85°C 加热 5 min 使酶失活。
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。

标准流程:

注：按此步骤操作有助于打开复杂 RNA 模板的二级结构，提高反转录效率、增加 cDNA 产物的长度。

1. 在 DNase/RNase-free 离心管中加入下列成分:

组分	体积
----	----

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



dNTPs Mix (10mM Each)	1 μ l
RNA 模板	$\leq 1 \mu\text{g total RNA}$ 或 $\leq 0.1 \mu\text{g poly(A) mRNA}$
引物	1 μ l*
Nuclease-free Water	补足至 10 μ l

* 根据不同的实验目的,引物可选择加入 1 μ l Oligo18 (dT)或者 1 μ l Random Primer, 或者将 Oligo18 (dT) 和 Random Primer 按照一定的比例混匀后取 1 μ l 混合引物加入。也可以根据实验需要,加入 1 μ l 自备的序列特异性引物(浓度 20 μ M)。采用自备的序列特异性引物时, RNA 模板的量可调整为“ $\leq 5 \mu\text{g total RNA}$ 或 $\leq 0.5 \mu\text{g poly(A) mRNA}$ ”。

- 65°C 孵育 5 min, 再立即冰浴 2 min。
- 在上述反应管中依次加入下列成分:

组分	体积
步骤 2 处理后的反应液	10 μ l
5 \times RTase III Buffer	4 μ l
RNase Inhibitor (RNasin)	0.5 μ l
SuperRT III RTase (200U/ μ l)	1 μ l
Nuclease-free Water (DEPC-treated)	补足至 20 μ l

- 轻轻混匀, 短暂离心, 进行反转录反应。如用 Oligo18 (dT)或序列特异性引物, 50°C 孵育 30-50 min; 如用 Random Primer, 25°C 孵育 10 min, 50°C 孵育 30-50 min。
注: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, 见【简化流程】。
- 85°C 加热 5 min 使酶失活。
- 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。

注意事项:

- SuperRT III RTase 以 RNA 为模板获得第一链 cDNA, 其起始位点由所使用的引物决定。
- SuperRT III RTase 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。
- 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。
- RNA 应置于-70°C以下保存, cDNA 合成产物应置于-20°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C 保存, 保质期 24 个月。

