

## StartScript Reverse Transcriptase 使用说明书

(产品货号: EM120)

### 描述

StartScript Reverse Transcriptase 是一种完全通过计算机设计的 RNA 导向的 DNA 聚合酶, 通过基因工程改造的重组 *E. coli* 菌株生产。该酶具有如下特性:

1. 反转录酶活力: StartScript Reverse Transcriptase 可以利用单链 RNA 合成 cDNA。得益于酶工程的持续优化, 其针对稀有碱基的反转录扩增能力得到了较大增强, 大大提高了全长 cDNA 分子比例和平均长度。
2. DNA 聚合酶活力: StartScript Reverse Transcriptase 以单链 DNA 作为模板合成互补 DNA 链。
3. 温启动能力和热稳定性: 37°C 以下活性表现低于最适温度活性的 5%, 随着温度逐步升高, 开始表现出较强反转录酶活力和 DNA 聚合酶活力, 并可以在 65°C 下维持该活性超过 30 分钟以上, 可在室温下配制反应体系, 大大提高了扩增反应的特异性和高通量反应时的批次内一致性。
4. 完整的 RNase H 活性。

以上的特性使得 StartScript Reverse Transcriptase 完美地适用于扩增反应中 RNA 的检测, 特别是在 RT-qPCR 和 RT-LAMP 实验, 可以有效提高扩增的灵敏度、特异性和产物的产量。

### 产品组分与规格

货号	组分	3000 U
EM120	StartScript Reverse Transcriptase (15 U/ $\mu$ L)	200 $\mu$ L
	10 $\times$ StartScript Buffer	1 mL
	MgSO <sub>4</sub> (100mM)	1 mL
	10 $\times$ Assay Buffer	1 mL

储存液: 10 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50%甘油, pH 7.5 @ 25°C。

反应液 (10 $\times$ StartScript Buffer): 200 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, 100 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20 mM MgSO<sub>4</sub>, 1% Tween-20, pH 8.8 @ 25°C。

### 酶活定义

一个酶活单位 (U) 定义为: 在 50°C 条件下, 20 分钟内催化 1 nmol 的 dTTP 掺入酸不溶性物中所需要的酶量。

### 应用

cDNA 合成; RT-LAMP; RT-qPCR。

### 储存

-20 $\pm$ 5°C, 可保存 1 年。

### 使用方法

1. cDNA 合成

1.1 按以下组分配制反应体系

组分	每管加样量
10×StartScript Buffer	2.5 μL
StartScript Reverse Transcriptase (15 U/μL)	0.25 μL
RNase Inhibitor	20 U
dNTP Mix(10 mM)	1.25 μL
RT Primers	0.5 μM (终浓度)
RNase Free H <sub>2</sub> O	补足至 25 μL

1.2 涡旋混合。

1.3 在 45°C 下孵育 5 分钟进行退火，55-65°C\* 下孵育 5-10 分钟进行 cDNA 合成。

1.4 95°C 下，加热 20 分钟失活 Reverse Transcriptase。

\*: 可根据实际需要设定反应时间和反应温度，**此酶在 70°C 下仍有较强活性。**

2. RT-LAMP

2.1 按以下组分配制反应体系\*

组分	每管加样量/μL
10×StartScript Buffer	2.5
StartScript Reverse Transcriptase (15 U/μL)	0.5
MgSO <sub>4</sub> (100 mM)	1.5
Bst DNA Polymerase (Large Fragment, 8U/μL)	1
FIP/BIP Primers (25×)	1 (终浓度 1.6μM)
F3/B3 Primers (25×)	1 (终浓度 0.2μM)
LoopF/B Primers (25×)	1 (终浓度 0.4μM)
dNTP Mix (10 mM each)	3.5
RNase Free H <sub>2</sub> O	Up to 25

2.2 涡旋混合。

2.3 放置于 60-65°C 反应。

\*: 反应体系中各个组分的最佳用量会因靶基因序列及所设计的引物序列不同而有差异，如想达到最佳扩增效果需要根据实验做进一步优化。

RT-qPCR

3.1 按以下组分配制反应体系

组分	每管加样量/μL
10×Assay Buffer	2.5
StartScript Reverse Transcriptase (15 U/μL)	0.5
RNase inhibitor (40U/μL)	0.5
Taq DNA Polymerase (5U/μL)	0.5
Forward PCR primer (10μM)	1
Reverse PCR primer (10μM)	1
Taqman probe (10μM)	0.5
dNTP Mix (10 mM each)	1
RNase Free H <sub>2</sub> O	Up to 25

3.2 RT-qPCR 反应程序\*

步骤	温度	时间	循环数
Step 1	60°C	15 min	/
Step 2	95°C	2 min	/
Step 3	95°C	5 s	40-45cycles
Step 4	55°C	30s	

\*可根据实际需要设定步骤 1-4 的反应时间和反应温度。



欢迎扫码关注