



GeticoScript III 逆转录酶使用说明书

一、产品简介

GeticoScript III 逆转录酶是一款经过基因工程改良的高性能逆转录酶，其原型为 M - MLV (Moloney Murine Leukemia Virus) 逆转录酶。通过特定的基因改造，该酶具备了更强的延伸能力，并且能够适应更广泛的温度范围，尤其在较高温度下表现出色，有效克服了传统逆转录酶在处理具有复杂二级结构 RNA 时的局限性，从而能够更高效地合成第一链 cDNA。

二、产品特性

- **温度适应性:** 在 37°C - 55°C 的温度区间内均能保持良好的活性，可根据 RNA 模板的特性灵活选择反应温度，以获取最佳反应效果。对于具有复杂二级结构的 RNA，适当提高反应温度有助于减少二级结构对逆转录过程的干扰，提升 cDNA 合成效率和质量。
- **高效合成能力:** 能够在较短时间内实现 cDNA 的有效合成，无论是针对常见的 RNA 样本，还是在处理一些难以逆转录的模板时，都能展现出较高的合成效率，为后续实验提供充足的 cDNA 模板。
- **广泛应用兼容性:** 适用于多种下游实验，如可信度高的 qPCR 及多重 qPCR 反应，可精准定量基因表达水平；适合长链 cDNA 的合成，为研究较长基因或基因片段提供有力支持；也可用于构建高比例的全长 cDNA 文库，满足基因组学研究中全面基因信息获取的需求。

三、适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物等各类生物来源的 RNA 的逆转录反应，无论是总 RNA、mRNA，还是病毒 RNA 等，均能实现高效逆转录，为基因表达分析、基因克隆、RNA 病毒研究等多种生物学实验提供基础。

四、产品组成

产品名称	规格
GeticoScript III 逆转录酶	50 μ l (200 U/ μ l)
5X GeticoScript Buffer	1ml
0.1M DTT	400 μ l

五、活性单位定义

以 poly (rA) 为模板 /oligo (dT) 12 - 18 为引物，在 37°C 条件下，10 分钟内催化 1 nmol 的 dTTP 掺入形成酸不溶性沉淀物中所需要的酶量，定义为一个活性单位 (U)。

六、操作步骤



1. 准备工作

- 从冰箱中取出所需试剂，即 GeticoScript III 逆转录酶和 5X GeticoScript Buffer，置于冰上缓慢解冻。
- 准备 RNase - free 的枪头、EP 管等实验耗材，确保实验过程中无 RNase 污染。
- 提取高质量的 RNA 样本，并通过分光光度计或其他合适方法测定其浓度和纯度，确保 RNA 质量符合实验要求。RNA 样本应保存于 -80℃ 或 -20℃ 冰箱，使用前短暂离心并置于冰上。

2. 设计引物

- 根据实验目的和待逆转录的 RNA 序列，选择合适的引物。常见的引物类型包括随机引物、Oligo (dT) 引物和基因特异性引物。
- 随机引物：适用于未知序列或复杂的 RNA 样本，可与任何 RNA 序列结合，启动逆转录反应。
- Oligo (dT) 引物：主要用于逆转录 mRNA，其与 mRNA 的多聚 A 尾特异性结合。
- 基因特异性引物：针对特定的基因序列设计，可显著提高逆转录的特异性，适用于对特定基因进行研究的实验。

3. 配制反应体系（以 20μl 体系为例）

在冰上的 RNase - free 离心管中，按照以下顺序依次加入各成分：

- RNA 模板：根据实验需求和 RNA 浓度，加入适量的 RNA 样本，一般为 1 - 5μg。
- 引物：加入适量的所选引物，终浓度通常为 0.1 - 1μM，具体浓度参照试剂盒说明书进行调整。
- 5X GeticoScript Buffer: 4μl，该缓冲液为逆转录反应提供适宜的反应环境，包括维持稳定的 pH 值、提供必要的镁离子等。
- 0.1M DTT: 2μl
- GeticoScript III 逆转录酶: 1μl (200 U)，具体用量可根据 RNA 模板的复杂程度和实验经验进行适当调整。
- RNase - free 水: 补足至 20μl，以达到所需的反应体积。

加入各成分后，用移液器轻轻吹打混匀，注意避免产生气泡，然后短暂离心，使反应液集中于管底。

4. 进行逆转录反应

将离心管放入 PCR 仪或其他适用于逆转录反应的仪器中，按照以下条件进行反应：

- 退火：一般在 25℃ - 37℃ 下孵育 5 - 10 分钟，使引物与 RNA 模板充分退火结合。
- 逆转录：在 42℃ - 55℃ 下孵育 30 - 60 分钟，在此温度范围内，GeticoScript III 逆转录酶以 RNA 为模板合成 cDNA。对于具有复杂二级结构的 RNA 模板，可适当提高反应温度至 50℃ - 55℃，以减少二级结构对逆转录的抑制作用。
- 终止反应：反应结束后，将反应管置于 70℃ - 85℃ 下加热 5 - 10 分钟，使逆转录酶失活，终止反应。

5. 保存与后续应用

逆转录反应完成后，得到的 cDNA 可立即用于后续的实验，如 PCR 扩增、实时荧光定量 PCR、基因克隆等。如果暂时不使用，可将 cDNA 保存于 -20℃ 或 -80℃ 冰箱中，避免反复冻融，以保持 cDNA 的稳定性。

七、注意事项

• **试剂混匀**：使用前，请轻轻颠倒混匀试剂，避免剧烈振荡产生气泡。若试剂没有充分混匀，其反应性能可能会有所下降，严禁使用振荡器混匀。GeticoScript III 逆转录酶含有高浓度的甘油，黏度较高，使用前需充分混匀后缓慢吸取，以确保吸取量准确。

• **防止污染**：整个操作过程应严格使用 RNase - free 的枪头、EP 管等耗材，尽量避免 RNase 污染。操作过程中应戴手套，并保持实验台面清洁。实验环境也应定期进行 RNase 清除处理，以确保实验结果的准确性和可靠性。

• **引物质量**：确保所使用的引物质量良好，溶解峰为单峰，以保证扩增的特异性。引物应保存于 -20℃，避免反复冻融导致引物降解。

• **低温操作**：整个操作过程应在冰上进行，以减少 RNA 的降解。从 RNA 样本的取出到反应体系的配制，均需保持低温环境，防止 RNA 在操作过程中因温度升高而发生降解。

• **适用范围限制**：本产品仅限于专业人员的科学研究使用，不得用于临床诊断或其他非科研用途。在使用过程中，应严格遵守相关实验室安全规定和操作规程。

• **保存与运输条件**：产品应在 -20±5℃ 条件下保存，保质期为 24 个月（生产日期详见产品标签）。运输过程中需维持 -20℃ 以下的低温环境，以确保产品活性不受影响。若产品保存条件不符合要求或超过保质期，可能会导致产品性能下降，影响实验结果。