

版本号: KR240816

FastKing RT Kit II (With gDNase)

FastKing cDNA第一链合成试剂盒 II

(去基因组)

目录号: KR126

产品内容

产品组成	KR126-01 (25 rxn)	KR126-02 (100 rxn)	KR126-03 (1000 rxn)
5×gDNA Remove Mix	50 μl	200 μl	10×200 μl
10×RT Primer Mix	50 μl	200 μl	10×200 μl
FastKing RT Enzyme Mix II	25 μl	100 μl	10×100 μl
10×King RT Buffer II	50 μl	200 μl	10×200 μl
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	2×1 ml	10×2×1 ml

储存条件

本试剂盒使用于冰运输，收到后请置于-30~-15℃下保存，保质期12个月。

产品简介

FastKing cDNA第一链合成试剂盒II是一种高效、稳定、快速并可以去除基因组DNA污染的反转录系统。本试剂盒含有高效去除基因组DNA的gDNase，通过42℃，3 min即可去除基因组DNA，有效避免Total RNA中基因组DNA的干扰。

本试剂盒所用的反转录酶，是新一代的反转录酶，具有更强的RNA亲和性和热稳定性，进一步提高了反转录效率和反应速率，具有更高的反应灵敏度，尤其适合低丰度RNA样品的检测。另外，新反转录酶对RNA模板的高亲和力，使其在通读GC含量高，二级结构复杂的RNA模板和抗逆性等方面更具优势。

产品特点

操作简单快速：反应体系配制简单，最快19 min完成cDNA第一链的合成。

通读复杂模板：能够作用于GC含量高，二级结构复杂的RNA模板。

样品普适性高：对不同物种来源及杂质较多的RNA模板的适用性高。

后续兼容性好：后续配合荧光定量检测产品，灵敏度高、稳定性好。

反应灵敏度高：反转录体系具有更高的灵敏度，适合低丰度RNA的检测。

适用范围

RT-PCR；荧光定量RT-PCR；cDNA文库构建；SAGE (基因表达连续分析)；引物延伸。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 下列操作步骤适用于模板量为1 ng-500 ng的总RNA，如果总RNA量大于500 ng，请按比例扩大反应体系。
2. 在冰上进行操作，防止RNA发生降解。
3. 根据实验需求不同，也可以选用Oligo-dT Primer或Gene Specific Primer，引物使用量如下：Oligo-dT Primer，50 pmol/20 μl反应体系，Gene Specific Primer，5 pmol/20 μl反应体系。
4. 使用Gene Specific Primer时，反转录反应可设置为42℃，15 min。当PCR反应有非特异性扩增时，将反转录温度升到50℃会有改善。
5. 反转录体系可以根据需要相应扩大。

操作步骤

使用FastKing cDNA第一链合成试剂盒 II 合成第一链cDNA，投入1 ng-500 ng的总RNA可建立20 µl反应体系。

1. 将RNA模板在冰上解冻，5×gDNA Remove Mix、10×RT Primer Mix、10×King RT Buffer II、RNase-Free ddH₂O在室温（15-30℃）解冻，解冻后迅速置于冰上。使用前将每种溶液涡旋振荡混匀，简短离心以收集残留在管壁的液体。

注意：以下操作步骤请在冰上进行。为了保证反应液配制的准确性，进行反应体系配制时，应先配制成Mix，然后再分装到每个反应管中。

2. 按照表1的基因组DNA的去除体系配制混合液，彻底混匀。简短离心，并置于42℃，孵育3 min[®]，然后置于冰上放置。

表1 gDNA去除反应体系

组成成分	使用量
5×gDNA Remove Mix	2 µl
Total RNA	1 ng-500 ng
RNase-Free ddH ₂ O	补足到10 µl

3. 按照表2的反转录反应体系配制混合液。

表2 反转录反应体系

组成成分	体积
10×King RT Buffer II	2 µl
FastKing RT Enzyme Mix II	1 µl
10×RT Primer Mix	2 µl
RNase-Free ddH ₂ O	补足到10 µl

4. 将反转录反应中的Mix加到gDNA去除步骤的反应液中，充分混匀。
5. 42℃，孵育15 min。如果进行长片段（>1 kb）反转录，可将反应时间提升至30 min。
6. 85℃，孵育1 min之后放于冰上，得到的cDNA可用于后续实验或-30~-15℃保存。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

RNA模板质量控制

反转录酶以RNA为模板合成第一链cDNA，因此RNA模板的质量直接影响反转录的结果。

1. 模板的完整性：RNA模板的完整性对反转录非常重要，若RNA模板中含有RNase，将降解RNA模板，最后导致cDNA产物的量少甚至无cDNA产物。
2. 模板的纯度：若RNA模板中含有蛋白、较高浓度的盐离子、乙醇、酚等杂质，将影响反转录酶的活性，最终影响反转录结果。
3. 模板的加样量：以上操作步骤适用于RNA模板的量为1 ng-500 ng，如果RNA模板的量大于500 ng，请按比例扩大反应体系。

注意

1. 若后续实验为荧光定量PCR，反转录产物的加样量应不超过PCR体系终体积的1/10，例如20 μ l的PCR反应体系，反转录产物的加样量应不超过2 μ l。
2. 将反转录产物置于冰上，再进行后续PCR反应；如果需要长时间保存，请置于-30~-15℃条件下。