

版本号: KR240816

FastKing gDNA dispelling RT SuperMix II

FastKing一步法除基因组 cDNA第一链合成预混试剂II

目录号: KR128

产品内容

产品组成	KR128-01 (25 rxn)	KR128-02 (100 rxn)	KR128-03 (1000 rxn)
5×FastKing-RT SuperMix II	100 µl	400 µl	10×400 µl
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	2×1 ml	10×2×1 ml

储存条件

本产品使用干冰运输。收到本产品后，请立即置于-30~-15℃下保存。保质期12个月。

产品简介

FastKing一步法除基因组cDNA第一链合成预混试剂II是一种高效、稳定、快速并可以去除基因组DNA污染的反转录预混Mix。5×FastKing-RT SuperMix II中不但含有RT-PCR中反转录反应所需的所有试剂（反转录酶、RNase Inhibitor、Random Primers、Oligo-dT Primer、dNTP Mixture、反应Buffer），还含有高效去除基因组DNA的热敏DNase，使得RNA中残留基因组的去除与反转录反应同时进行，方便反转录操作。此外，热敏DNase生效快，效率高，作用时间短，在处理残留基因组DNA之后不会对cDNA造成影响。

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

体系配制简单：本产品为预混Mix形式，只需加入RNA模板和水便可以进行反应。

反转录速度快：最快16 min即可完成cDNA第一链的合成，同时去除残留基因组DNA。

通读复杂模板：试剂盒独特的优化配方和高效酶系统，具有出色的复杂模板通读能力。

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. 本产品的适宜模板量范围为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，防止发生RNA降解。
3. 5×FastKing-RT SuperMix II组分在-30~-15℃下，可能仍保持融化状态，如果冻存温度偏低也可能结冰，这都属于正常情况，但使用时避免反复冻融。

操作步骤

使用FastKing一步法除基因组cDNA第一链合成预混试剂 II 合成第一链cDNA，投入 1 ng-500 ng的总RNA可建立20 μ l反应体系。

1. 将RNA模板在冰上解冻，5 $\times$ FastKing-RT SuperMix II 和RNase-Free ddH₂O在室温（15-30 $^{\circ}$ C）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. 按照下表所示配制反转录反应体系。

组成成分	使用量
5 $\times$ FastKing-RT SuperMix II	4 μ l
Total RNA	1 ng-500 ng
RNase-Free ddH ₂ O	补足到20 μ l

3. 按照下表所示进行反转录反应。

反应温度	反应时间	说明
42 $^{\circ}$ C	15 min*	去除基因组及反转录反应
85 $^{\circ}$ C	1 min	酶灭活过程

* 如果反转录产物较长（>1 kb）或者希望得到更多的cDNA产物，可以将反转录时间延长至30 min。

注意1：若后续实验为荧光定量PCR，反转录产物在不稀释的前提下，添加量应不超过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。

注意2：反转录结束后，如果立即进行后续PCR反应，可将反转录产物置于冰上或2-8 $^{\circ}$ C下保存；如果需要长时间保存，请置于-30~-15 $^{\circ}$ C下保存。



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。