

版本号: KR240816

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057 TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

1

### 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 μΙ	400 µl	10×400 µl
RNase-Free ddH <sub>2</sub> 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 SuperMixⅡ组分在-30~-15°C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 μI反应体系。

1. 将RNA模板在冰上解冻,5×FastKing-RT SuperMix II 和RNase-Free ddH₂O在室温(15-30°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×FastKing-RT SuperMix II	4 μl
Total RNA	1 ng-500 ng
RNase-Free ddH₂O	补足到20 μl

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°C	15 min*	去除基因组及反转录反应
85°C	1 min	酶灭活过程

<sup>\*</sup> 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 μl的PCR反应体系,反转录产物的加样量应不超过2 μl。

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℃下保存;如果需要长时间保存,请置于-30~-15℃下保存。

#### 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。



#### 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
  - 147 VIII 244
- 全线产品查询

- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

# 坚持 "CUSTOMER FIRST"理念 秉承"质量为天,服务为根"宗旨!

### TIANGEN为您提供从样本处理, 核酸纯化到下游检测的整体解决方案

#### 科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列

- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

#### 科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微牛物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案