版本号：KR220511

FastKing gDNA Dispelling RT SuperMix

FastKing一步法除基因组cDNA第一链合成预混试剂

目录号：KR118

产品内容

产品组成	KR118-01 (25 rxn)	KR118-02 (100 rxn)	KR118-03 (1000 rxn)
5× FastKing-RT SuperMix	100 μl	400 μl	10×400 μl
RNase- Free ddH_2O	1 ml	2×1 ml	20×1 ml

储存条件

该试剂盒使用干冰运输，-30~-15℃可保存12个月。

产品简介

本产品是一种高效、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中不但含有RT-PCR中反转录反应所需的所有试剂（FastKing RT Enzyme、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gDNase，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，热敏的gDNase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。

本试剂盒所含的高效反转录酶FastKing RT Enzyme，是通过分子改造后的新型反转录酶，特别增加了疏水motif，具有更强的RNA亲和性和热稳定性，从而进一步提高了其反转录效率和反应速率，42℃、15 min即可完成cDNA第一链的合成。另外，由于新型酶与RNA亲和力的增强，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的表现也更为的突出。

产品特点

体系配制简单：本产品为预混Mix形式，只需加入模板RNA和水便可以进行反应。
反转录效率高：反转录效率可达95%以上。
反转录速度快：只需42℃，15 min即可完成cDNA第一链的合成，同时去除残留DNA。
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。
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。

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50 ng-2 μg的总RNA，如果总RNA量大于2 μg，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. 不需分开变性和退火两个步骤。但是对于二级结构很复杂的RNA模板，推荐使用变性步骤，即在操作步骤之前，将模板RNA在65℃孵育5 min后迅速转移到冰上，进行下一步操作。

操作步骤

使用FastKing一步法除基因组cDNA第一链合成预混试剂合成第一链cDNA，50 ng-2 μg的总RNA可建立20 μl反应体系。

1. 将模板RNA在冰上解冻；5× FastKing-RT SuperMix和RNase-Free ddH_2O在室温解冻，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。

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	4 μl
Total RNA	50 ng-2 μg
RNase-Free ddH_2O	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℃	15 min	去除基因组及反转录反应
95℃	3 min	酶灭活过程

注意：

1. **根据客户需要，反转录体系可以按比例缩减至10 μl，10 μl反应体系可最多使用1 μg的Total RNA。**
2. **若后续实验为实时荧光定量PCR，反转录产物的加量应不超过PCR体系终体积的1/10，例如50 μl的PCR反应体系，反转录产物的加量应不超过5 μl。**
3. **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℃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，因此模板RNA的质量直接影响反转录的结果。

1. 模板的完整性：模板RNA的完整性对反转录非常重要，若RNA模板中含有RNase将降解模板RNA，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、盐离子、EDTA、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。如若含有基因组DNA将影响后续实验的准确性。
3. 模板的加样量：以上操作步骤适用于模板RNA量为50 ng-2 μg，如果模板RNA的量大于2 μg，请按比例扩大反应体系。

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
- 环境微生物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案