

版本号: KR250516

# FastSensi RT Kit (With gDNase)

## FastSensi cDNA第一链合成试剂盒 (去基因组)

目录号: KR136

### 产品内容

产品组成	KR136-01 (25 rxn)	KR136-02 (100 rxn)	KR136-03 (1000 rxn)
5×gDNA Remove Mix	50 µl	200 µl	10×200 µl
RT Primer Mix	50 µl	200 µl	10×200 µl
FastSensi RT Enzyme Mix	25 µl	100 µl	10×100 µl
10×Sensi RT Buffer	50 µl	200 µl	10×200 µl
RNase- Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml	2×1 ml	10×2×1 ml

### 储存条件

本试剂盒使用干冰运输, 收到后请置于-30~-15°C下保存, 保质期12个月。

---

## 产品简介

FastSensi cDNA第一链合成试剂盒是一种高效、稳定、快速并可以去除基因组DNA污染的反转录系统。试剂盒中含有高效去除基因组DNA的gDNase；42°C，2 min即可去除残留gDNA，有效避免Total RNA中基因组DNA的干扰。

本试剂盒所用的逆转录酶，是全新一代的逆转录酶，具有更高的RNA亲和性和热稳定性，进一步提升了逆转录过程的效率和速率，使得本产品具有更高的反应灵敏度。另外，新逆转录酶对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

**实验过程快速：**酶促反应快速，最快5 min即可完成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。

## 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-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，反转录温度仍可设置为42°C。当PCR反应有非特异性扩增时，将反转录温度升到50°C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FastSensi cDNA第一链合成试剂盒合成第一链cDNA，1 ng-2  $\mu\text{g}$ 的总RNA可建立20  $\mu\text{l}$ 反应体系。

1. 将模板RNA在冰上解冻，5 $\times$ gDNA Remove Mix、RT Primer Mix、10 $\times$ Sensi RT Buffer、RNase-Free ddH<sub>2</sub>O在室温（15-30 $^{\circ}\text{C}$ ）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，进行各项反应时，可先配制成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 $^{\circ}\text{C}$ ，孵育2 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 $\times$ gDNA Remove Mix	2 $\mu\text{l}$
Total RNA	1 ng-2 $\mu\text{g}$
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	补足到10 $\mu\text{l}$

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

试剂	使用量
10 $\times$ Sensi RT Buffer	2 $\mu\text{l}$
FastSensi RT Enzyme Mix	1 $\mu\text{l}$
RT Primer Mix	2 $\mu\text{l}$
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	补足到10 $\mu\text{l}$

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

说明：\*2 min是快速反应流程，如果靶标基因的丰度较低或者快速流程下实验效果不佳，可将反转录时间延长至10 min。

注意：

- 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  $\mu$ l的PCR反应体系，反转录产物的加样量应不超过2  $\mu$ l。
- 反转录结束后，立即进行后续PCR反应，可将反转录产物置于冰上或2-8°C下保存；如果需要长时间保存，请置于-30~-15°C下保存。

## RNA模板质量控制

逆转录酶以RNA为模板合成第一链cDNA，模板RNA的质量和数量直接影响逆转录的结果。

- 模板的完整性：模板RNA的完整性对逆转录非常重要，若RNA模板中含有RNase酶将降解模板RNA，最后导致cDNA产物的量少甚至无cDNA产物。
- 模板的纯度：若RNA模板中含有蛋白、盐离子、EDTA、乙醇、酚等杂质，将影响逆转录酶的活性，最后影响逆转录结果。
- 模板的加量：以下操作步骤适用于模板RNA量为1 ng-2  $\mu$ g，如果模板RNA的量大于2  $\mu$ g，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
- 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
- 环境微生物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案