

版本号: KR240109

FastKing One Step RT-PCR Kit

FastKing一步法RT-PCR试剂盒

目录号: KR123

产品内容

产品组成	KR123 50 μ l $\times$ 50 rxn
2 $\times$ FastKing One Step RT-PCR MasterMix	1.25 ml
25 $\times$ RT-PCR Enzyme Mix	100 μ l
RNase-Free ddH ₂ O	2 $\times$ 1 ml

储存条件

该试剂盒请置于-30~-15℃保存。-30~-15℃下保质期一年。

产品简介

本试剂盒采用一步法使RT和PCR在同一反应体系中进行，反应过程中不需要添加试剂，无需打开管盖，避免了样品间交叉污染的同时也提高了检测的灵敏度。

本试剂盒中的25×RT-PCR Enzyme Mix为TIANGEN新型逆转录酶(King RTase)、抗体修饰的热启动Taq DNA聚合酶和RNase Inhibitor的预混Mix形式，其中的King RTase是分子改造后的新型逆转录酶，特别增加了疏水motif，具有更强的RNA亲和性和热稳定性，提高了该酶的逆转录效率和对具有复杂二级结构RNA模板的延伸能力；PCR过程中采用了性能优良的抗体修饰Taq DNA聚合酶，其中高亲和力抗体可以保证在常温条件下完全封闭Taq酶活性，使得逆转录后的PCR反应具更高的扩增效率和特异性。另外，本产品中的2×FastKing One Step RT-PCR MasterMix为专门为上述两种关键酶而优化的新型反应体系，其中包含必要离子组分、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂，可保证King RTase和Taq聚合酶在整个一步法反应过程中发挥理想功效。

产品特点

反应灵敏高效：性能优良的逆转录酶和Taq酶保证了高反应效率；

操作简单快速：双组分的产品形式使得操作过程变得简单快速；

解决复杂模板：通读GC含量高，二级结构复杂的RNA模板；

样品普适性好：对不同物种来源及杂质较多的RNA模板的适用性高。

需自备的试剂

1. 特异性PCR引物；
2. RNA模板。

适用范围

RT-PCR技术可用于检测细胞和组织中的基因表达水平，克隆特定基因的cDNA序列和检测RNA病毒。

实验操作步骤

- 1. 完全融化模板RNA，特异性引物，2×FastKing One Step RT-PCR MasterMix和RNase-Free ddH₂O，短暂离心后置于冰浴上。
- 2. 按下表在冰浴条件下配制反应液：

组成成分	体积／反应
2×FastKing One Step RT-PCR MasterMix	25 μl
25×RT-PCR Enzyme Mix	2 μl
上游特异性引物(10 μM)	1.25 μl
下游特异性引物(10 μM)	1.25 μl
RNA模板	10 ng-1 μg total RNA
RNase-Free ddH ₂ O	补水至50 μl
总体系	50 μl

注意：当同时进行多次RT-PCR反应时，将各组分加倍混合后再分装到每个反应管中，可以减少实验操作产生的误差，使所取的试剂体积更准确，减少试剂损失。

- 3. 按下表设置PCR反应条件：

反应温度	反应时间	反应循环数	说明
42℃ ^{*1}	30 min	1	逆转录
95℃	3 min	1	预变性
94℃	30 sec	35-40	PCR循环步骤
55-65℃ ^{*2}	30 sec		
72℃	30 sec		
72℃	5 min	1	补充延伸步骤

^{*1} 为避免非特异扩增，一步法反应液的配制应始终在冰浴中进行，待PCR仪器温度达42℃时再将反应管放到仪器中。

^{*2} 退火温度可根据实际引物的不同而进行调整。

- 4. 将PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳检测分析。

使用注意事项

1. RNA 模板可以采用总RNA或mRNA，建议使用TIANGEN公司生产的TRNzol或RNAprep Pure系列制备高质量的总RNA。
2. 一步法RT-PCR 实验应避免RNase污染，可采用以下措施：
 - 1) 因人的皮肤表面和唾液都有RNase，因此实验中应佩戴一次性手套和口罩；
 - 2) 一步法RT-PCR实验应使用专门的仪器和耗材，建议在专门区域操作RNA；
 - 3) 一步法RT-PCR实验相关耗材应用0.1% DEPC(焦碳酸二乙酯)水溶液在37℃处理12 h, 并高压灭菌30 min后使用。
3. 25×RT-PCR Enzyme Mix在取用之前应短暂离心收集溶液后再吸取，吸取时动作要慢，使用后应尽快放回-30~-15℃。
4. 2×FastKing One Step RT-PCR MasterMix在取用前应充分混匀并离心后使用。
5. 本试剂盒必须使用特异性引物，引物的选择可根据具体实验来选择。



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