

miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Poly A)

miRNA 一键 cDNA 合成反转录试剂盒 (加尾法, 用于 qPCR)

产品简介

本产品通过加 A 尾法来进行 miRNA 第一链 cDNA 的反转录。产品中的酶及缓冲体系均经过精心优化, 可保证 miRNA 3'末端的 Poly(A)修饰过程和逆转录过程同时高效进行。

本产品用于下游 qPCR 应用, 仅需设计特异性正向引物, 配合试剂盒中的通用反向引物, 即可对样本中的 miRNA 进行检测。此外, 试剂盒中提供了人、大鼠、小鼠通用的 U6 内参上下游引物, 可在宽广的区域内得到良好的标准曲线。

本产品推荐与 miRNA qPCR 染料法预混液 (Cat#N132039) 配套使用, 以获得最优的实验结果。

产品规格

产品货号	N132068E	N132068S
产品规格	10 T	50 T

产品组分

组分编号	组分名称	N132068E	N132068S
N132068-A	miRNA RT Enzyme Mix	17.5 μ L	87.5 μ L
N132068-B	2 \times miRNA RT Buffer	50 μ L	250 μ L
N132068-C	RNase-free H ₂ O	2 mL	10 mL
N132068-D	Universal Reverse Primer (10 μ M)	800 μ L	4 mL
N132068-E	U6 Forward Primer (10 μ M)	100 μ L	500 μ L
N132068-F	U6 Reverse Primer (10 μ M)	100 μ L	500 μ L

产品储存

冰袋运输。-20°C保存, 有效期 1 年。

操作注意

1. 使用前, 将冻存的各组分充分融解并轻轻混匀后使用。
2. 实验时, 请使用无 RNase 污染的耗材, 避免不必要的损失影响实验结果。
3. 本产品避免反复冻融, 配制时应避免强光照射。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途!

操作说明

1. 体系配置

室温融化 A 组分 miRNA RT enzyme mix 和 B 组分 2×miRNA RT buffer 后轻微颠倒混匀，置于冰上并按下表配置反应体系：

组分	使用量	终浓度
2×miRNA RT buffer	5 μ L	1×
miRNA RT enzyme mix	1.75 μ L	-
RNA	-	X
RNase-free H ₂ O	Up to 10	-

【注】：针对 RNA 样本，总 RNA 及提取的 miRNA 的浓度范围 10 pg-2 μ g，合成的 miRNA 拷贝数最低可达 60 copies，投入体积不超过 3.25 μ L。

2. 反转录程序

移液器轻轻混匀上述配制的反应液，按下表程序进行 miRNA 的逆转录反应：

反应温度	反应时间	备注
37°C	50 min	miRNA 加 A 尾及反转录过程
85°C	5 sec	酶失活过程

【注】：逆转录产物可直接进行下游 qPCR 检测。为避免逆转录体系对 qPCR 反应的抑制，可将产物稀释 10-1000 倍后使用。若短时间内不进行下游实验，可放置于-20°C保存。若长期保存，建议分装后，于-80°C保存，避免反复冻融。