



FQ™ miRNA cDNA Synthesis kit

货号: T431

- 产品内容

组分	T431A	T431B
Poly(A) Polymerase (黄色盖)	20μL	60μL
5× Poly(A) Polymerase Buffer (白色盖)	40μL	120μL
PreScript II Enzyme Mix (绿色盖)	40μL	120μL
5× PreScript II RT Buffer (红色盖)	80μL	240μL
Universal RTase Primer (透明盖)	45μL	130μL

- 储存条件

-20℃保存

● 产品概述

本试剂盒采用在 miRNA 3' 末端加多聚 A 尾 Poly(A)，再使用包含 Oligo(dT)的通用逆转录引物进行逆转录反应，生成 miRNA 对应的 cDNA 第一链。与本公司生产的 FQ™ miRNA qPCR SYBR Kit (货号 T434) 配套使用，采用 miRNA 的特异性正向引物和通用反向引物可进行特异性的 miRNA qPCR 检测。

miRNA cDNA 第一链合成试剂盒包含 miRNA 3' 末端 Poly(A)修饰过程和逆转录过程的所有试剂，该试剂盒具有高效的 Poly(A)修饰和逆转录效率，可从 20pg-2μg 的 total RNA 中有效制备 miRNA 对应的 cDNA 第一链。

● 使用前注意事项

预防 RNase 污染，应注意以下几方面：

- 1. 产品请于冰上放置使用，实验结束后请将产品于-20℃以下小心保存，以免引物降解或酶失活。
- 2. 操作时应预防 RNase 污染。注意经常更换新手套，因为皮肤经常带有细菌，可能导致 RNase 污染；使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染；配制溶液应使用无 RNase 的水。

● 操作方法

一、miRNA 3' 末端进行加 Poly (A)处理

- 1. 室温融化 5× Poly(A) Polymerase Buffer，使用时上下颠倒均匀混合 5× Poly(A) Polymerase Buffer 和 Poly(A) Polymerase，轻微离心后置于冰上，并按照下表配制比例在冰上配制所需的反应体系：

Total RNA	Optional
5× Poly(A) Polymerase Buffer	2 μL
Poly(A) Polymerase	1 μL
RNase-free ddH ₂ O	补充至10 μL

注：RNA 模板可使用 total RNA、富集过的小分子 RNA 及化学合成的 miRNA 标准品等，若使用 miRNA 标准品作为 RNA 模板，请参考 miRNA 标准品说明书；10 μL 反应体系建议不超过2 μg 的 Total RNA。

- 2. 移液器轻轻混匀上述配制的反应液，短暂离心后在37℃反应60min。所得所得的反应液可以直接进行下游实验，也可以放置-20℃短暂保存。如需长期保存建议存放于-80℃。

二、Poly (A)修饰的 miRNA 进行逆转录反应

- 1. 冰上配制下表所示反应体系：

Poly(A) 反应液	10 μL
Universal RTase Primer	2 μL
5× PreScript II RT Buffer	4 μL
PreScript II Enzyme Mix	2 μL
RNase-free ddH ₂ O	2 μL

- 2. 移液器轻轻混匀上述配制的反应液，短暂离心后在 42℃反应 45min，然后 70℃孵育 15min。合成的 cDNA 反应液可放置于-20℃保存；也可以直接进行下游荧光定量 PCR 检测。

技术咨询：

QQ/973107308 Tel/18927539098 Email/enzyvalley@163.com