



Stem-loop miRNA cDNA Synthesis kit

货号: T435A/B

- 产品内容

| 组分 | T435A | T435B |
|-------------------------------|-------|-------|
| 5× gDNA clearer | 100μL | 200μL |
| 10× RT Reaction Mix | 100μL | 200μL |
| PreScript III Enzyme Mix | 100μL | 200μL |
| RNase-free ddH ₂ O | 1mL | 1mL |

- 储存条件

-20°C保存

● 产品概述

本产品是适用于茎环法 miRNA cDNA 一链合成的专用试剂。其中5× gDNA clearer 可快速去除基因组 DNA 的污染，保证后续结果更加可靠。PreScript III Enzyme Mix 具有极高的热稳定性，有利于 miRNA 特异性逆转录产物的生成。cDNA 产物用于后续定量时，请务必使用本公司的 Stem-loop miRNA qPCR SYBR kit (#T432)，以获得最优的实验结果。

● 引物设计参考方法

本品采用茎环法逆转录，推荐使用的茎环序列为：

GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATCGCACTGGATACGAC

通常情况下，逆转录引物只需要根据 miRNA 序列在茎环序列的 3' 端添加与 miRNA 反向互补的 6 个碱基即可，具体请参考如下实施例：

hsa-miR-155 序列：

UUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGU

逆转录引物序列：

GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATCGCACTGGATACGACACCCCT

● 操作方法

1. 基因组 DNA 去除。

在 RNase-free 的 PCR 管中配制如下混合液：

| | |
|-------------------------------|----------|
| RNase-free ddH ₂ O | 至10μL |
| 5× gDNA clearer | 2μL |
| 模板 RNA | 10pg-1μg |

用移液器轻轻吹打混匀，短暂离心后置于 PCR 仪中42°C孵育2 min，冰上冷却备用。

2. 配制逆转录反应体系

在 RNase-free 离心管中配制如下混合液：

| | |
|-------------------------------|-------|
| RNase-free ddH ₂ O | 至20μL |
| 上一步反应液 | 10μL |
| Stem-loop primer(2μM)☆ | 1μL |
| 10× RT Reaction Mix | 2μL |
| Prescript III Enzyme Mix | 2μL |

☆ 推荐使用本公司的 miRNA 引物设计参考方法进行茎环引物的设计，以便与后续定量产品 Stem-loop miRNA qPCR SYBR kit (#T432) 中配套的 qPCR 反向引物搭配使用。

用移液器轻轻吹打混匀，短暂离心后按下列条件进行第一链 cDNA 合成反应。

| | |
|------|-------|
| 25°C | 5min |
| 50°C | 15min |
| 85°C | 2min |

cDNA 产物可立即用于 qPCR 反应，建议作为模板的 cDNA 产物的体积不超过 qPCR 反应体积的 1/10；短期存放建议在-20°C 保存，并在两个月内使用；长期存放建议分装后在-80°C 保存；cDNA 应避免反复冻融。

技术咨询：

QQ/973107308

Tel/18927539098

Email/enzyvalley@163.com