



## 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 <sub>2</sub> O	1mL	1mL

- 储存条件

-20℃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), 以或得最优的实验结果。

## ● 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:

GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGAC

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:

GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACACCCCT

## ● 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 <sub>2</sub> 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℃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 <sub>2</sub> 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℃	5min
50℃	15min
85℃	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℃ 保存,并在两个月内使用; 长期存放建议分装后在-80℃保存; cDNA 应避免反复冻融。

## 技术咨询:

QQ/973107308

Tel/18927539098

Email/enzyvalley@163.com