



# miRNA cDNA第一链合成预混液(茎环法)

miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Premix (Stem-loop)

Code No. AG11748

<b>包装量:</b>	50 rxns / 20 $\mu$ l
<b>保存温度:</b>	-20°C

## 产品概述

本产品是利用茎环法合成 miRNA 第一链 cDNA 的反转录试剂盒。本产品针对反应体系进行了优化, 5X miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Premix (Stem-loop) 中含有反转录反应所需的 Buffer 与 *M-MLV*, 只需加入茎环引物、RNA模板与水即可直接进行反应, 使用方便, 可有效减少试剂损失及实验误差, 缩短操作时间。本产品适用于 Total RNA 或 Small RNA 等包含 miRNA 样品的反转录。使用本产品合成得到的 cDNA 适合用于嵌合法 qPCR 分析, 推荐搭配公司产品 SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 II ( Code No. AG11702 ); 如对消除引物二聚体有较高的需求, 可搭配 SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 IV ( Code No.AG11746 ), 以获得较优的实验结果。

## 保存及运输

保存温度: -20°C保存

运输温度: 干冰运输或-20°C冰袋运输

## 产品组成

5X miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Premix (Stem-loop)	200 $\mu$ l
RNase free water	1 ml

## 实验操作

### 1. 反转录反应

按照下表在冰上配制好反应液, 置于PCR仪进行反应<sup>13</sup>:

组分名称	加入量
5X miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Premix (Stem-loop)	4 $\mu$ l
Stem-loop RT Primer <sup>*1</sup> ( 10 $\mu$ M )	0.5 $\mu$ l
RNA <sup>*2</sup>	$\leq$ 1 $\mu$ g
RNase free water	up to 20 $\mu$ l

反应条件: 25 °C 5 min  
 42 °C 15 min  
 85 °C 5 sec  
 4 °C -

- \*1: Stem-loop RT Primer 根据 miRNA 序列设计, 推荐使用量为 0.25  $\mu$ M, 可根据实际情况在 0.1 ~ 0.4  $\mu$ M 范围内调整。
- \*2: 在 20  $\mu$ l 反转录体系中, 建议 RNA 加入量不超过 1 $\mu$ g, 如基因的表达丰度高可根据实验结果对 RNA 进行稀释使用。如需提取 Small RNA 进行反转, 推荐使用本公司 *SteadyPure* 组织细胞 Small RNA 提取试剂盒 ( Code No. AG21027 )、*SteadyPure* 血液血清血浆 Small RNA 提取试剂盒 ( Code No. AG21030 ) 或 *SteadyPure* 石蜡包埋组织 Small RNA 提取试剂盒 ( Code No. AG21038 )。
- \*3: 反转录获得的 cDNA 可立即用于后续 qPCR 反应或置于 -20°C 暂存, 若需长期保存建议放置于 -80°C。

## 2. 定量PCR分析

经上述反转录过程得到的 cDNA 可以直接进行定量 PCR 分析。推荐搭配本公司产品 SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 II ( Code No. AG11702 ), 具体操作见详版说明书 ( 详版说明书可于官网[www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)下载 )。

## ➤ 结果检测

反应结束后, 确认扩增曲线和溶解曲线, 并进行标准曲线分析。  
 ( 分析方法请参照仪器操作手册 )

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)