

miRNA cDNA第一链合成预混液(茎环法)

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

Code No. AG11748

包装量: 50 rxns / 20 μ l
保存温度: -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. 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.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 μ 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¹³:

组分名称	加入量
5X miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Premix (Stem-loop)	4 μ l
Stem-loop RT Primer ^{*1} (10 μ M)	0.5 μ l
Total RNA ^{*2}	\leq 1 μ g
RNase free water	up to 20 μ 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 μ M, 可根据实际情况在 0.1 ~ 0.4 μ M 范围内调整。
- *2: 在 20 μ l 反转录体系中, 建议 Total RNA 用量不超过 1 μ g。
- *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。推荐搭配公司产品 SYBR Green *Pro Taq* HS 预混型 qPCR 试剂盒 II (Code. AG11702), 具体操作见详版说明书 (详版说明书可于官网www.agbio.com.cn下载)。

➤ 结果检测

反应结束后, 确认扩增曲线和熔解曲线, 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