

## miRNA加尾法第一链合成试剂盒

**产品货号:** MF0202

**储存条件:** -20°C保存, 有效期 1 年, 避免反复冻融

### 产品介绍

miRNA PolyA+ RT Kit 采用基因工程改造的 Poly A 聚合酶, 可为 miRNA 高效添加 Poly A 尾, 以便于后续的 RT 反应。逆转录引物为特别设计的含有 Oligo d(T)的引物, 高度亲和含有 Poly A 尾的 miRNA, 使 RT 反应能够高效进行。miRNA PolyA+ RT Kit (gDNA-)的 RT 效率优于多家同类产品, 特别地, 与 LABLEAD 生物 miRNA PolyA SYBR qPCR Kit 配套使用, 可免费获得配套的 qPCR 下游引物和更加理想的实验结果。

### 产品特点

基因工程优化的 Poly A 聚合酶, miRNA Poly A 聚合酶高效快速;特别设计的含 Oligo d(T)的引物, 能够与 miRNA Poly A+ 高效结合, RT 效率高于多家同类试剂;

同一 RNA 一次 RT 可获得多个 miRNA 的 RT 产物, 后续可进行多个 miRNA 的检测, 节省样本用量。

### 产品组分

组 分	20T
RNase free ddH <sub>2</sub> O	400μl
Poly A(yellow)	20μl
2xPoly A Buffer	200μl
RTase Mix (red)	40μl
2x RT Buffer	200μl

### 使用方法:

#### 1.RNA 加 A 尾:

取 RNase-free 离心管, 配制如下混合液:

RNase free ddH <sub>2</sub> O	to 20μl
Poly A	1μl
2xPoly A Buffer	10μl
RNA	10pg~2ug

轻轻混匀, 37°C 30min, 迅速置于冰上。

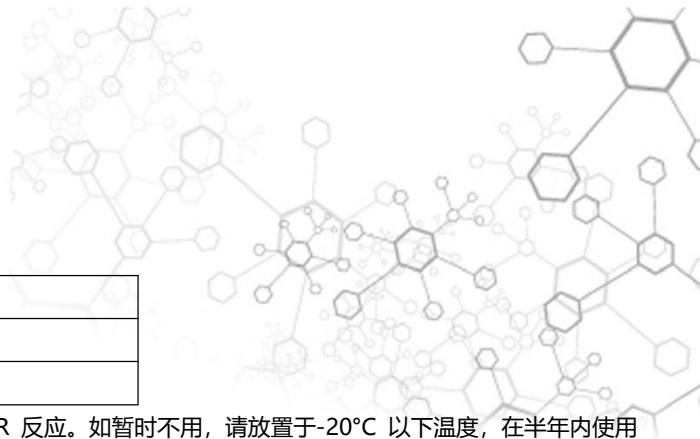
#### 2. RT 反应液配制:

上述反应液在使用前 5000rpm 离心 5s:

取上述反应液	8μl
2x RT Buffer	10μl
RTase Mix	2μl

用移液器轻轻吹打混匀。





### 3. RT 反应:

25°C	5min
50°C	15min
85°C	5min

反应完毕后, 5000rpm 离心 5s, 尽快放于冰上, 直接进行 PCR 反应。如暂时不用, 请放置于-20°C 以下温度, 在半年内使用完毕, 不要反复冻融。模板如具有复杂二级结构或高 GC 区域, 可将反应温度提高至 55°C。

#### 质量控制

以合成的 U6 为样本, 使用本试剂盒, 加 A、反转录, 取 1/10cDNA 产物进行 qPCR, CT 值小于 20。

#### 注意事项:

- 1 用于 RT 反应的器具和水应进行 RNase 灭活处理, 操作人员应佩戴口罩、手套等, 以防 RNase 污染。
- 2 模板 RNA 使用量: 总 RNA 可在 10pg~2ug 之间。
- 3 试剂配制过程建议在碎冰上进行, RTase Mix 粘度较大, 应缓慢吸取, Tip 头不要插入液体太深, 以免沾染太多酶液。

