

核酸  
扩增  
系列

CAT#:130911-25  
低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

## miRNA cDNA 第一链合成试剂盒

miRNA First Strand cDNA Synthesis Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506  
网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)



	使用手册	1 份
--	------	-----

**运输及保存** 低温运输，-20℃保存

**使用方法**

一、对 miRNA 3' 末端进行加 Poly (A)处理

1. 在冰上预冷 RNase-Free 的反应管内加入以下试剂至总体积 20 uL。注意需要最后加入 E.coli Poly(A)聚合酶。

试剂组分	体积
自备的 Total RNA (见注)	1 ug
10× Poly(A)聚合酶反应液	2 uL
ATP 溶液, 1mM	2 uL
RNase-Free 水	补水至 20 uL
E.coli Poly(A)聚合酶(5 U/ uL)	0.4 uL (2U)

注：在反应中使用的 Total RNA 必须含有 miRNA。也可以直接使用 miRNA (建议加入量为 2 - 5uL, 需根据目的 miRNA 的丰度决定)。

2. 移液器轻轻混匀上述配制的反应液，短暂离心后在 37℃反应 60 min。所得的反应液可以直接进行下游实验 (注意：只能把 2uL 直接用于后续的 RT 反应，多于 2uL 则需要先乙醇-乙酸钠沉淀，再将加尾后的 miRNA 溶于水，然后再取所需量用于 RT。如果不经过沉淀，带入的残留的 poly (A) 聚合酶反应液将会干扰 RT 反应)，也可以放置-20℃短暂保存。如需长期保存建议存放于-80℃。

二、对带 Poly (A)尾巴的 miRNA 进行逆转录反应

3. 按照下表设置 20 uL 体系的 RT 反应：

成分	体积
Poly(A) 反应产物 (来于上步)	2 uL
RNase-Free 水	10 uL
Oligo (dT) -Tag 引物	1 uL
4×RT Buffer (含 dNTP)	5 uL
MMLV 逆转录酶 (含 RI)	2 uL

4. 移液器轻轻混匀上述配制的反应液，短暂离心后在 42℃反应 60 min。

5. 70℃保温 10 min 终止反应。

6. 合成的 cDNA 反应液可放置于-20℃保存；也可以暂时冰上放置，立即用于后续的荧光 PCR 定量检测，不需要纯化。

**关联产品** 双酶一管式 miRNA cDNA 合成试剂盒 (CAT#:131042)

