

**公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！**

**商品属性：**

| 产品名称           | 规格         | 货号       |
|----------------|------------|----------|
| 一步法miRNA反转录试剂盒 | 25T        | A-PJ1084 |
| 一步法miRNA反转录试剂盒 | 100TX20 μl | A-PJ1084 |

**描述：**由于 miRNAs 分子序列较小，仅 20nt 左右，没有真核生物特有的 Poly(A)尾巴结构，采用传统 Oligo dT 引物和随机引物很难获得从 miRNA 到 cDNA 的反转录产物。公司开发出一套全新的加 A 法 miRNA 反转录试剂盒，基于 Peter 改良的 miR-Q 技术，可以对成熟的 miRNA 同时完成加 A 反应和反转录反应，直接获得含有特异性 tag 和 15(T)的 cDNA 产物（如图 1 所示）。该方法使得 miRNA 反转录与 mRNA 的反转录一样轻松。直接将提取的 miRNA 与反应缓冲液混合物混合，并置于 PCR 仪上 1 小时即可获得高浓度的、包含所有 miRNAs 分子的 cDNA 产物。获得的 cDNA 产物适用于 HG miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒进行定量检测，该方法已被大量文献所采用。

**储存：**请置于-20°C，可保存 2 年；避免反复冻融

**操作方法**

1. 按以下组分配制反转录反应液

miRNA (0.01-0.1 μg) or Total RNA 0.1-2 μg

4×One step miRNA RT Solution 5 μl

\*10×miRNA RT Primer 2 μl

Rnase Free H2O Up to 20 μl

\*特别说明：10×miRNA RT Primer 引物为

5'-CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTVN-3'，定量扩增

用特异性上下游引物进行扩增，图 2 是以 hsa-miR-21 为

实例说明特异性上下游引物的设计方法

2. 在 PCR 仪上按以下条件进行反应：

37°C 60min

95°C 5min

3. 获得 cDNA 产物后使用 HG miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒进行 miRNA 定量检测。