

注：如果 n 份 RNA 要进行 microRNA 的逆转录；建议增加 10% 的余量，以便进行分装；举例，如果有 10 个样本要进行人 U6B 的逆转录和人 mir21 的逆转录；建议各配 11 个人份；

- 混匀后，42℃ 反应 60min；95 度 5 分钟；
- cDNA 产物如不马上进行 real time PCR 实验，应置于 -20℃ 保存。或者保存于 -80 度，可以保存 6 个月。

问题指南：

CDNA 质量验证	建议直接用 real time PCR 进行内参验证。
Test	本试剂盒中 1 个 Test 体积为 10ul；如需要检测更多基因，即需要更多 CDNA 模板，可以按比例多转录一定体积。
CDNA 的使用量	建议在 PCR 或者 real time PCR 试验中初始 CDNA 使用量为 5%，如果浓度过高，请稀释使用；如果浓度过低，请加倍使用，但最高使用量不能超过体积的 10%；如果 real time PCR 内参的 CT 值太大，建议重新逆转录或者重新抽提 RNA。

电话：4008801880 或 0086 21 51692391 传真：0086 21 51692391

Email: biotnt@biotnt.com 主页: www.biotnt.com

微信公众平台：搜索“BioTNT”可加入

在线支持 QQ 群：47468567

联系地址：上海市闵行区罗锦路 98 号 2 号楼 5 楼 邮编:200237

版本号：20160001

microRNA 逆转录试剂盒（茎环法）

目录号：

A2030A001（120T）

A2030A001x3（360T）

产品简介：

microRNA 逆转录试剂盒（茎环法）包括了一种全新高效逆转录酶、反应缓冲液及该实验中必需的反应组分。使用该试剂盒能够以 microRNA 为模板高效逆转录成互补的 cDNA 第一链，进而开展后继的相关实验。

保存条件：

-20℃ 避光保存。

警告：本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等其他用途。

安全提示：本产品中部分试剂有腐蚀性或毒性，请勿直接接触皮肤或吞咽；操作时请穿戴实验服、防护镜和手套；如果接触皮肤，应立即用洗涤剂 and 大量清水冲洗；误食或其他紧急情况，请及时到医院救治；部分试剂易燃，请注意消防安全。

注意事项：

- 用于 cDNA 合成反应的溶液试剂尽可能用 DEPC 进行处理，并在高压灭菌后使用，有些试剂不能高压灭菌时，首先用经过灭菌的器具、水等配制溶液后，再将溶液进行过滤除菌处理；
- miRNA 样品要避免基因组 DNA 污染；
- 避免多次反复冻融 miRNA；

- 试剂盒的各组成成分应在-20℃保存;
- cDNA 产物应置于-20℃保存,或者保存于-80℃,可以保存 6 个月。

试剂盒组成:

货号	试剂	120T 说明	360T 说明
A2030A001-A1	5×逆转录 Buffer	1 支	3 支
A2030A001-A2	高效逆转录酶	50ul/1 支	150ul/1 支
A2030A001-A3	重组 RNA 酶抑制剂	35ul/1 支	105ul/1 支
A2030A001-A4	dNTP mix	120ul/支	360ul/支
A2030A001-A5	Dd 水(Rnase ,Dnase free)	1.25ml/支, 3 支	1.25ml/支, 9 支

其他需要自己准备的:

- 仪器: 混匀器, PCR 仪, 离心机(冷冻); 移液器(10 μL, 200 μL, 1000 μL); 冰盒;
- 耗材: 1.5mL Eppendorf 管(无菌、无酶、RNase-free; 货号 A2010B0X04) Tips(RNase-free) (1000 μL、200 μL 的枪头; 货号 A2010B0X09);
- DEPC ddH₂O (Biotnt 统一货号 A2010B0X01): 也可以自己配制; 配法如下: 配 1000ml 的 DEPC 处理水, 超纯水 1000ml, 加 1ml 100%DEPC, 磁力搅拌器搅拌过夜。第二天高压蒸汽灭菌 121 度, 25min DEPC 分解成二氧化碳和酒精, 封闭冷藏备用。最好分装小瓶来用, 尽量避免污染;
- 手套, 口罩。

预防 RNase 污染, 应注意以下几个方面:

- 经常更换新手套, 以防止 RNase 污染;
- 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染;
- RNA 在 Rnazol 试剂中短时间内不会被 RNase 降解, 但提取后继续处

理过程中应使用不含 RNase 的塑料或玻璃器皿(玻璃器皿可在 150℃ 烧烤 4 小时, 塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟, 然后用 DEPC 水彻底清洗, 再灭菌, 即可去除 RNase);

- 配制溶液应使用 RNase-free ddH₂O (货号 A2010B0X01)

操作步骤:

- 在 0.5ml 微量离心管中(无菌无 RNA 酶, 货号 A2010B0X04), 加入总 RNA 1 μg (如果不计算浓度值, 直接加入 1 ul RNA);

注: 总 RNA 中应含有小 RNA(small RNA); 总 RNA 的量应在 1ng-5ug 之间; 如果采用特殊的专门抽提小 RNA 的试剂盒, RNA 的量应在 0.1ng-1ug 之间;

- 配制 逆转录反应体系

货号	名称	10ul 体系
A2030A001-A1	5×逆转录 Buffer	2 μl
A2030A001-A4	dNTP mix	1 μl
A2030A001-A3	重组 RNA 酶抑制剂	0.2 μl
A2030A001-A2	高效逆转录酶	0.4 μl
	RNA	1ul
PartC1	特异性茎环逆转录引物(10×)	1ul
A2030A001-A5	补水	4.4ul
	总体积	10ul