

核酸
扩增
系列

CAT#:131042-25
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

miRNA 荧光定量 RT-PCR 检测试剂盒

miRNA Realtime qRT-PCR 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; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本试剂盒采用 SYBR Green I 嵌合荧光染料法的原理来进行miRNA荧光定量PCR检测。本产品是专门为miRNA定量检测而研发的新一代预混形式的荧光定量PCR检测试剂。2×miRNA qPCR Mix包含有Taq DNA聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR增强剂等所有PCR所需要的成分。miRNA qPCR Mix中所含的荧光染料SYBR Green I 可以与所有的双链DNA结合，使该产品可用于不同靶序列的检测而不需合成特异性标记探针。其中的Taq DNA polymerase是经化学修饰的高效热启动酶，配合独特的缓冲体系，使反应特异性更好，灵敏度更高，并能在更广的范围内对miRNA进行准确定量。它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 简便、快捷完成 miRNA 的检测。 2. 检测通量高，只需最少的 RNA 样本，即可同时进行多种目标 miRNA 的检测。 3. 检测特异性好，独特的 miRNA 引物设计技术及其优化的反应体系避免了非特异性扩增、特别是 Pre-miRNA 的污染。 4. 检测分辨率高：该系统能分辨单碱基差异的 miRNA。 5. 检测灵敏度高：可在低至 pg 级的总 RNA 中检测到特异表达的 miRNA。 																				
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="571 1128 1394 1509"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>25次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×miRNA qPCR Mix</td> <td>131042A</td> <td>0.75 mL</td> </tr> <tr> <td>Reverse Primer(10 μM)</td> <td>131042B</td> <td>30 μL</td> </tr> <tr> <td>RNase-Free Water</td> <td>80403</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>miRNA cDNA 第一链合成试剂盒</td> <td>130911</td> <td>25 次</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>131041sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成分	编号	25次包装	2×miRNA qPCR Mix	131042A	0.75 mL	Reverse Primer(10 μM)	131042B	30 μL	RNase-Free Water	80403	1 mL	miRNA cDNA 第一链合成试剂盒	130911	25 次	使用手册	131041sc	1 份
成分	编号	25次包装																			
2×miRNA qPCR Mix	131042A	0.75 mL																			
Reverse Primer(10 μM)	131042B	30 μL																			
RNase-Free Water	80403	1 mL																			
miRNA cDNA 第一链合成试剂盒	130911	25 次																			
使用手册	131041sc	1 份																			
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20℃保存，有效期一年。</p>																				
<p>自备试剂</p>	<p>样品、qPCR 上游引物 (Forward primer) 等</p>																				
<p>使用方法</p>	<p>一、miRNA cDNA 第一链合成</p> <p>请参见 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒产品使用手册。</p> <p>二、miRNA 荧光定量检测</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 室温融化 2×miRNA qPCR Mix 和 Reverse primer (10 μM)。 2. 使用时请将 2×miRNA qPCR Mix 上下颠倒轻轻均匀混合，避免起泡，并经短暂离心后使用。如果试剂没有混匀，其反应性能会有所下降。 3. 按照下表组分配制荧光定量 PCR 反应体系： 																				

试剂组分	体积
2 × miRNA qPCR Mix	25 μL
Forward Primer (自备)	1 μL
Reverse Primer	1 μL
miRNA 第一链 cDNA	X μL
RNase-Free Water	至 50 μL

4. 建议反应程序设置如下：

循环	温度	时间
1 ×	95℃	10 min
40-45 ×	95℃	15 s
	60℃	1 min
溶解曲线分析	根据 PCR 仪要求设定	

注：本产品所采用的热启动酶须在预变性 95℃、10 min 条件下实现酶的活化。

注意事项

1. miRNA 第一链 cDNA 的加入量不要超过 Real time PCR 体积 10%。
2. 对于特殊的检测体系，高含量的 cDNA 模板易导致非特异性扩增，根据所检测 miRNA 的丰度适当的稀释 cDNA（稀释 10 倍或者 100 倍）。
3. 2 × miRNA qPCR Mix 中含有 SYBR Green I 和 ROX 染料，保存本产品或配制 PCR 反应液时应避免强光照射。

关联产品

一站式柱式 miRNA_{OUT} (CAT#:80104)