



miRNA 加尾染料法荧光定量 PCR 试剂

产品货号: MR0202

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 SYBR qPCR Kit 采用 LABLEAD 的化学修饰的热启动聚合酶, 使用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 miRNA 的荧光扩增, 具有高度的特异性, 能够有效避免引物二聚体形成和其它形式的非特异扩增。反应缓冲液经充分优化, PCR 扩增效率高, 荧光信号强, 反应灵敏度优于多家同类产品。试剂盒免费配置优化后的 Tag Primer, 使 miRNA 的扩增效果更有保障。

产品特点

使用化学修饰的热启动聚合酶, 反应特异性高, 可有效避免非特异扩增;
反应缓冲液经充分优化, PCR 扩增效率高, 拥有更高的反应灵敏度;
免费提供优化的 Tag Primer, miRNA 的扩增效果更有保障。

产品组分

| 组 分 | 200T |
|----------------------------|-----------|
| miRNA PolyA SYBR Mastermix | 1.0ml × 2 |
| Tag Primer | 80ul |
| ddH ₂ O | 1.0ml × 2 |
| U6-reward primer | 80ul × 2 |

使用方法:

1、按下表配制反应体系:

取 RNase-free 离心管, 配制如下混合液:

| | |
|-------------------------------|---------|
| 2× miRNA PolyA SYBR Mastermix | 10ul |
| Tag Primer (10uM) | 0.4ul |
| Specific primer (10uM) | 0.4ul |
| Template DNA/cDNA | 0.2ul |
| ddH ₂ O | to 20ul |

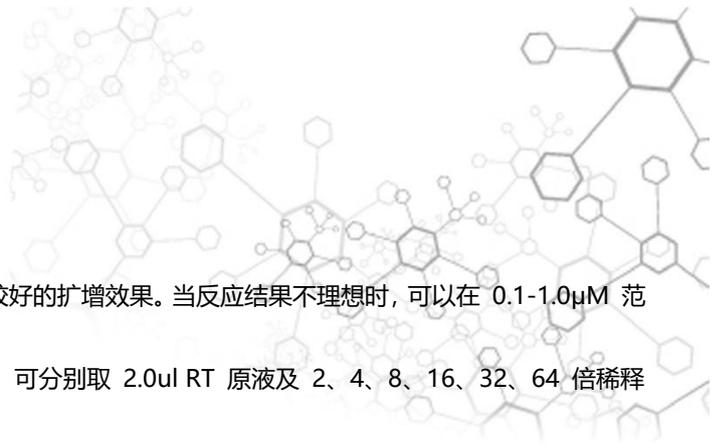
* 可自行设计合成 miRNA 正向引物。

2、设置反应条件

| | |
|--------|-------------------------------------|
| 激活 Taq | 95°C 5min |
| PCR 循环 | 95°C 10S; 60°C 30S; 40 循环 |
| 熔解曲线 | 95°C 15S; 60°C 1min; 95°C 15S; 1 循环 |

* 仪器类型不同, 熔解曲线采集程序不同, 使用仪器默认熔解曲线采集程序即可





- 说明:** 1、一般来说反应体系中引物终浓度为 $0.2\mu\text{M}$ 可得到较好的扩增效果。当反应结果不理想时,可以在 $0.1-1.0\mu\text{M}$ 范围内调整引物浓度。
- 2、加样体积一般不超过 $2.0\mu\text{l}$, 首次实验建议进行优化摸索, 可分别取 $2.0\mu\text{l}$ RT 原液及 2、4、8、16、32、64 倍稀释液进行 qPCR。
- 3、如 PCR 结果不甚理想, 可考虑采用 3 段法温度设置进行扩增, 扩增条件为: 95°C 5min; 95°C 10S; 60°C 20S; 70°C 20S (收集荧光信号)。
- 4、试剂保存与操作过程中避免强光照射。
- 5、配制反应体系时, 避免过于震荡, 以防气泡产生。

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。

