



One Step Stemaim-it miR qRT-PCR Kit Quantitation (SYBR Green)

使用说明书

【产品简介】

本制品是采用嵌合荧光法 (SYBR[®] Green I) 进行miRNAs 实时荧光定量检测, 采用特异性的Stem-loop RT adapter 与特异性的PCR扩增引物双重保证, 确保反应不受其前体及其他因素干扰, 序列高度同源的miRNAs也可精确区分。采用高效的反应体系, 利用一步法使RT和PCR在同一反应体系中进行, 反应过程中不需要添加试剂, 无需打开管盖, 避免了污染, 精确定量, 可对每个细胞所含的目标miRNA分子多少进行准确定量。同时具备超宽的定量线性范围, 从几个拷贝一直到几百万个拷贝, 定量线性范围跨越7个数量级。可实现对目标miRNA分子进行准确定量并具有很好的重复性。

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LM-0103A(20μl×100 次)	LM-0103B(20μl×200 次)
OneStep PCR Mix(2×)	1 ml×1 支	1 ml×2 支
OneStep Enzyme Mix	100μl×1 支	200μl×1 支
OneStep Primer Mix	100μl×1 支	200μl×1 支
RNase Free ddH ₂ O	1ml×1 支	1ml×2 支
说明书	1 份	1 份

【操作步骤】

1. 完全融化模板, OneStep PCR Mix(2×)、OneStep Enzyme Mix、OneStep Primer Mix 等试剂融化并离心, 之后置于冰浴中。
2. 试剂准备: 在冰浴条件下按下表配制反应液 (举例)

注意: ABI Prism7500, ABI Prism7500 Fast, MJ Research Chromo4, Corbett Rotor Gene 3000 机型, 添加 ROX Reference Dye 0.04μl/反应 (0.1X)。

ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One, ABI Step One Plus 机型, 添加 ROX Reference Dye 0.4μl/反应(1X)。

反应成分	体积/反应	终浓度
OneStep PCR Mix(2×)	10μl	1×
OneStep Enzyme Mix	1μl	
OneStep Primer Mix	1μl	
RNA 模板	2-5μl	
RNase Free ddH ₂ O	补水至 20μl	
总体系	20μl	

3. 循环参数设定: (请参照各类仪器的操作软件进行设置)

注意: 因有些厂家的荧光定量PCR仪不能够降温至16℃只可以达到25℃, 此时也可以在25℃进行退火步骤1。

步骤	温度	时间	循环数
1 退火	16℃-25℃	30分钟	1
2 反转录反应	42℃	30分钟	1
3 预变性	94℃	2分钟	1
4 变性	94℃	10秒	40
	退火延伸及检测荧光	62℃	
步骤4中进行荧光检测			

结果检测: 反应结束后取 10μl 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。



【试剂运输及储存条件】

试剂盒运输可在2-8℃环境下进行。

【有效期】

本试剂盒有效期为12个月，请在有效期内使用。

注：本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。