



# One Step Stemaim-it miR qRT-PCR Kit Quantitation (Probe)

## 使用说明书

### 【产品简介】

本制品是采用 Taqman 探针进行 miRNAs qRT-PCR 的专用试剂。**Stemaim-it miR qRT-PCR miRNAs** 定量检测方法, 采用特异性的 Stem-loop RT adapter 与 miR PCR Primer 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。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。检测灵敏度高, 样品消耗量少, 仅需 1-10ng 的 total RNA 或同等物。同时又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-0104A(20 $\mu$ l $\times$ 100 次)	LM-0104B(20 $\mu$ l $\times$ 200 次)
OneStep PCR Mix(2 $\times$ )	1 ml $\times$ 1 支	1 ml $\times$ 2 支
OneStep Enzyme Mix	100 $\mu$ l $\times$ 1 支	200 $\mu$ l $\times$ 1 支
OneStep Primer Mix	100 $\mu$ l $\times$ 1 支	200 $\mu$ l $\times$ 1 支
RNase Free ddH <sub>2</sub> O	1ml $\times$ 1 支	1ml $\times$ 2 支
说明书	1 份	1 份

### 【操作步骤】

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

反应成分	体积/反应	终浓度
OneStep PCR Mix(2 $\times$ )	10 $\mu$ l	1 $\times$
OneStep Enzyme Mix	1 $\mu$ l	
OneStep Primer Mix	1 $\mu$ l	
RNA 模板	2-5 $\mu$ l	
RNase Free ddH <sub>2</sub> O	补水至 20 $\mu$ l	
总体系	20 $\mu$ l	

- 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 $^{\circ}$ C只可以达到25 $^{\circ}$ C, 此时也可以在25 $^{\circ}$ C进行退火步骤1。

步骤	温度	时间	循环数	
1	退火	16 $^{\circ}$ C-25 $^{\circ}$ C	25分钟	1
2	反转录反应	42 $^{\circ}$ C	30分钟	1
3	预变性	94 $^{\circ}$ C	2分钟	1
4	变性	94 $^{\circ}$ C	10秒	40
	退火延伸及检测荧光	60 $^{\circ}$ C	40秒	
步骤4中进行荧光检测				

### 【注意事项】

- 待检标本若不及时检测, 应保存于-20 $^{\circ}$ C。



- 2.实验相关耗材应用0.1%DEPC(焦碳酸二乙酯)水溶液在37℃处理12小时,并高压灭菌30分钟后使用。
- 3.试剂盒各组份使用前请充分融化并摇匀,离心管内的试剂需离心数秒后使用。
- 4.PCR操作各阶段应在不同实验区域进行,包括PCR扩增试剂准备区、标本处理区及PCR扩增检测区。
- 5.人的皮肤表面和唾液都有RNase,应穿工作服,戴一次性手套(经常替换手套),使用一次性用品。
- 6.PCR操作人员应具有经验和受过培训。
- 7.操作过程中用到的超净台、加样枪、离心机、扩增仪等仪器设备应经常用10%次氯酸或70%乙醇及紫外灯处理。
- 8.实验中废弃的吸嘴应弃于含10%次氯酸的废液缸中,以防止污染。
- 9.实验后,扩增管切勿打开,并且将其丢弃在实验区以外区域。

#### 【试剂运输及储存条件】

试剂盒运输可在2-8℃环境下进行。(含有ROX内参染料),储存时,须置-20℃避光保存。

#### 【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。