

A-D1901	细胞/组织基因组DNA 提取试剂盒（离心柱）	50 次 100 次
全基因DNA甲基化 / 羟甲基化定量试剂盒		
A-P-1035	DNA 甲基化 定量检测试剂盒（荧光法）	48 次 96 次
A-P-1037	DNA 羟甲基化 定量检测试剂盒（荧光法）	48 次 96 次
其它		
A-R1201	高纯总RNA 极速提取试剂盒（离心柱）	50 次 200 次
A-R3301	通用植物总RNA 极速提取试剂盒（离心柱）	50 次 100 次

一般实验室研究使用，不适用于 *诊断和治疗*

A&D miRNA qPCR Detection Kit (SYBR Green)

A&D miRNA 荧光定量检测试剂盒

专门为miRNA 定量检测而研发，在更广的范围内进行准确定量！

目录号：**A-P7021**（50×50 ul 体系）

操作手册

在您收到订购的产品时，请确认操作手册是配套的！

如您在实验过程中有新的创意操作可

反馈信箱：tech@aderr.com

2011年10月，第1版



艾德科技（北京）有限公司
A&D Technology Corporation

地 址：北京昌平区中关村生命科学园东 60 米（102206）

电 话：010-52406250

传 真：010-52406250

网 址：www.aderr.com

Email:tech@aderr.com



艾德科技(北京)有限公司
A&D Technology Corporation

试剂盒内容:

试剂盒组成成分	(A-P7021) (50×50ul 体系)
2×miRNA qPCR Premix(含 SYBR)	1.35ml
Reverse Primer (10uM)	55ul
50×ROX	50ul
说明书	一份

储存条件: -20℃避光保存

本制品使用后, 2×miRNA qPCR Premix(含SYBR)请置于4℃避光保存, 可存放6个月, Reverse Primer (10uM)仍至于-20℃保存。

产品简介:

本试剂盒采用SYBR®Green I 嵌合荧光法的原理进行miRNA 荧光定量检测。本试剂盒包括含miRNA 荧光定量检测的所有试剂, 包括2×miRNA qPCR Premix, 50×ROX。

2×miRNA qPCR Premix (含SYBR)是专门为miRNA 定量检测而研发的新一代预混合的荧光定量PCR 检测试剂, 其中的DNA Polymerase 采用的是抗体修饰的热启动形式, 配合特殊的Buffer 体系, 使反应特异性更好, 灵敏度更高, 并能在更广的范围内进行准确定量。

注: 该试剂盒须与A&D miRNA cDNA 第一链合成试剂盒 (A-P6621) 配套使用。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

使用产品前请认真阅读

1. 本品中含有荧光染料SYBR®Green I, 保存本品或配置PCR 反应液时应避免强光照射。

2. 反应液的配制和分装中, 请一定使用新的(无污染的)枪头等耗材, 尽量避免污染。

需自备的试剂:

1. 分子生物实验级别的水
2. PCR 上游引物 (Forward Primer)

Forward Primer 设计原则:

1. 遵循引物设计的最普遍原则
2. 以成熟的miRNA 序列为基础, 将U 替换为T, 这是最基础的设计方法
3. 试剂盒中提供的下游引物的T_m 值为65℃, 设计上游引物的T_m 值要尽量保证在65℃左右。
4. 若按照原则2 的方法直接设计的引物其T_m 值过低, 可在引物5' 端添加几个碱基(最好为G/C), 也可在3' 端加1 个或多个A 碱基, 或者5' 端和3' 同时修饰。
5. 若按照原则2 的方式直接设计的引物其T_m 值过高, 可以在引物的5' 或3' 端去掉几个碱基。
6. 若按照原则2 的方式直接设计的引物存在自身发夹或二聚体结构, 可对5' 端个别碱基颠换, 使特异性增高。

操作步骤:

1. 室温融化2×miRNA qPCR Premix 和Reverse Primer。
2. 使用时请将2×miRNA qPCR Premix 上下颠倒混匀，避免起泡，轻微离心后使用。

注：如果试剂没有混匀，其反应性能会有所下降，且不要使用振荡器混匀。

3. 将试剂置于冰上，并按表a 配制反应体系

注：使用ABI 公司：PRISM7000/7300/7700/7900HT, 7500Fast, Step one/Step one Plus PCR System 荧光定量仪器需要按照表b 加样。

表a

组成成分	50 μl 体系	20 μl 体系	体系终浓度
2×miRNA qPCR Premix(含SYBR)	25 μl	10 μl	1×
Forward Primer	-----	-----	200 nM
Reverse Primer (10uM)	1 μl	0.4 μl	200 nM
miRNA 第一链 cDNA	-----	-----	-----
ddH ₂ O	至 50 μl	至 20 μl	-----

表b

组成成分	50 μl 体系	20 μl 体系	终浓度
2×miRNA qPCR Premix(含SYBR)	25 μl	10 μl	1×
Forward Primer	-----	-----	200 nM
Reverse Primer (10uM)	1 μl	0.4 μl	200 nM
miRNA 第一链 cDNA	-----	-----	-----
50×ROX	1 μl	0.4 μl	1×
ddH ₂ O	至 50 μl	至 20 μl	-----

注：miRNA 第一链cDNA 的加入量不要超过Real time PCR 体积 1/10。

高浓度cDNA 易导致非特异扩增，可对cDNA 适当稀释。

适用于Real Time PCR 扩增仪：

Applied Biosy 公司：PRISM7000/7300/7500/7700/7900HT, 7500Fast, Step one/Step one plus PCR System

Roche 公司：LightCycler

Stratagene 公司：MX3000P, MX3005P 和MX4000 等

Eppendorf 公司：Mastercycler er realplex

Bio-rad 公司：iCyclerIQ/Iq5

Bioer 公司：Line-Gene

其他各种Real Time PCR 扩增仪

PCR 反应程序设置

2×miRNA qPCR Premix 中含有抗体介导的DNA Polymerase, 该酶与其他热启动Taq 酶不同之处是需要很短的热激活处理时间，缩短了整个PCR 所需时间。

循环温度时间内容

循环	温度	时间	内容
1×	94℃	2min	预变性
35-45×	94℃	20sec	变性
	60℃	34sec	退火，延伸

相关产品:

DNA样本的制备

货号	品名	规格
A-D1801	全血基因组DNA 提取试剂盒（离心柱）	50 次 100 次