

All-in-One™ miRNA qPCR Primer 使用说明书

For quantitative detection of mature miRNA with All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit 2.0

■ 产品介绍

microRNA (miRNA) 是一类由大约 22 个核苷酸组成的单链非编码小分子 RNA，参与多个生理活动过程的调控。但由于长度太短，一般难以检测。All-in-One™ miRNA qPCR Primer 是特异 mature miRNA 的 qPCR 检测上游引物，其需配合 All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit 2.0 使用，主要应用于 mature-miRNA 的定量检测，公司推出的 All-in-One™ miRNA qPCR Primer 都经过以 cDNA 为模板的 qPCR 实验验证。

■ 产品包装

	产品货号	浓度	规格
All-in-One™ miRNA qPCR Primer	Various catalog numbers	2 μM	100 rxn
Positive Control cDNA Mix	HmiRQT0001/MmiRQT0002/RmiRQT0003	10×	3 rxn
产品使用说明书一份			

注：推荐储存条件：-20℃ 保存，避免反复冻融。至少可稳定保存 1 年以上。

■ 注意事项

- 1、使用本产品进行实验时，需在离心机上 12000rpm 离心 30sec，使其液体完全流到离心管底部。
- 2、本产品为特异 mature miRNA 的检测上游引物，已用灭菌 ddH₂O 稀释到使用浓度 2μM（即为 10×Primer 包装），使用时客户仅需参考其 PCR 反应体系的大小，吸取一定量的本产品，使其终浓度达整个反应体系的 1× 量（即终浓度为 0.2μM）即可。
- 3、该产品需推荐配合 All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit 2.0 使用，具体使用方法敬请参考 “All-in-One™ miRNA qPCR Primer 验证报告” 中 Page6 的 “mature miRNA 的 qPCR 检测” 部分。
- 4、产品中附有公司进行产品验证的 Positive Control cDNA Mix 模板，客户如需要，可参考 “miRNA qPCR Primer 验证报告” 中 Page 6 的 “mature miRNA 的 qPCR 检测” 部分对本产品进行质检。
- 5、本产品需配合含 SYBR Green 的 qPCR 试剂使用，不一定适合探针法检测。
- 6、本产品中配有的 Positive Control cDNA Mix 是采用 All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit 2.0 中特异的 oligo-dT adaptor 引物进行反转录合成的，其检测需配合 miRNA qRT-PCR Detection Kit 中的 universal Adaptor PCR primer，所以此 cDNA 不能应用于其它同类 miRNA qRT-PCR Detection Kit。

■ 实验步骤

以下反应体系的设置参考 2×All-in-One™ qPCR Mix 使用说明，反应条件的设置以 Bio-Rad iQ5 定量 PCR 仪为参考。若使用其他试剂、定量 PCR 仪，请对反应体系及反应条件做适当调整。

- 1、解冻并轻柔混匀试剂产品 All-in-One™ qPCR Mix、All-in-One™ miRNA qPCR Primer 及 Universal Adaptor PCR Primer。
- 2、按照如下表格所示，冰上配制 qPCR 反应体系。可根据需要设置阳性模板的实验对照组。

试剂	体积	终浓度
2×All-in-One™ qPCR Mix	10 μl	1×
First-strand cDNA (diluted 1:5) Or Positive Control cDNA Mix	2 μl	
All-in-One™ miRNA qPCR Primer (2 μM)	2 μl	0.2μM
Universal Adaptor PCR Primer (2 μM)	2 μl	0.2μM
ddH ₂ O	补至 20 μl	

- 3、轻柔混匀 qPCR 预混液，并短暂离心。
- 4、根据下表设置三步法 PCR 程序，开始 qPCR 反应。

循环数	步骤	温度	时间	检测与否
1	预变性	95° C	10 min	否
40	变性	95° C	10 sec	否
	退火	60° C	20 sec	否
	延伸	72° C	10 sec	是
	熔解曲线分析	65° C~95° C	Heating Rate 0.5° C / 6 sec	是
	降温	25° C	30 sec	否

■ 验证报告

miRNA qPCR Primer 验证报告是以电子版的形式提供，可在公司官方网站下载
<http://www.igenebio.com/tech/datasheet/index.php>

■ 产品应用

All-in-One™ miRNA qPCR Primer 为应用于 mature miRNA 表达量检测的引物，其配合 All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit 2.0 可对 mature miRNA 进行定性、定量的 qPCR 检测。

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。

QP-05282021



地址：广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器F区F801 邮编：510663
客服电话：020-28069233 E-mail: support@igenebio.com 网址: www.igenebio.com