

# TransScript® Green miRNA Two-Step qRT-PCR SuperMix

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AQ202

保存: -20°C避光保存两年。

## 产品说明

本产品含miRNA检测的全部试剂。以miRNA为模板,用TransScript® miRNA RT Enzyme Mix(包含加尾酶和反转录酶)、2×TS miRNA Reaction Mix高效加尾和合成第一链cDNA; miRNA检测使用PerfectStart™ Green qPCR SuperMix。适用于Total RNA或small RNA等包含miRNA样品的检测。

## 特点

- 最佳的加尾酶和反转录酶配比及优化的反应Buffer,确保miRNA的反转录效率。
- Poly(A)加尾和cDNA合成在同一反应体系中一步完成。
- 用PerfectStart™ Green qPCR SuperMix扩增,扩增效率高,特异性高,灵敏度好,数据准确。
- 配有适用于不同机型的Passive Reference Dye(调整PCR加样误差引起的管间差异),数据准确。

## 试剂盒组成

Component	AQ202-01
TransScript® miRNA RT Enzyme Mix	20 µl
2×TS miRNA Reaction Mix	200 µl
Universal miRNA qPCR Primer (10 µM)	200 µl
2×PerfectStart™ Green qPCR SuperMix	5×1 ml
Passive Reference Dye (50×)	200 µl
RNase-free Water	1 ml

**使用前, 请将各组分混匀并离心。**

## 加尾反应和第一链cDNA合成

1、加入

Component	Volume
Total RNA/miRNA*	x µl
TransScript® miRNA RT Enzyme Mix	1 µl
2×TS miRNA Reaction Mix	10 µl
RNase-free Water	to 20 µl

\*Total RNA不超过5 µg, miRNA无法直接用分光光度计定量,推荐用量1-9 µl(20 µl体系)。

2、轻轻混匀,37°C孵育1小时。

3、85°C加热5秒钟失活RT Enzyme Mix。



**推荐qPCR体系与条件** (以20 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
cDNA* <sup>1</sup>	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)* <sup>2</sup>	0.4 μl	0.2 μM
Universal miRNA qPCR Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
2×PerfectStart™ Green qPCR SuperMix	10 μl	1×
Passive Reference Dye (50×) (Optional)	0.4 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total Volume	20 μl	-

\*1、反转录所得cDNA建议稀释5-10倍后使用。

\*2、上游引物为miRNA特异引物，根据目的miRNA设计。

**qPCR (三步法)**

94°C 30 sec  
 94°C 5 sec  
 50-60°C 15 sec ★  
 72°C 10 sec ★  
 Dissociation Stage

40-45 cycles

**qPCR (两步法)**

94°C 30 sec  
 94°C 5 sec  
 60°C 30 sec ★  
 Dissociation Stage

40-45 cycles

对于ABI仪器，荧光信号采集步骤（三步法中可以是退火或是延伸步骤）的时间如下

- ★使用ABI Prism7700/7900时，采集时间设定为30秒；
- ★使用ABI Prism7000/7300时，采集时间设定为31秒；
- ★使用ABI Prism7500时，采集时间设定为34秒；
- ★使用ABI ViiA 7时，采集时间设定为至少19秒。

高扩增效率选择三步法。高特异性选择两步法。

**Passive Reference Dye适用机型**

- Passive Reference Dye I (50×)  
 ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast
- Passive Reference Dye II (50×)  
 ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000
- No Passive Reference Dye  
 Roche LightCycler 480, Roche Light Cycler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000, Mastercycler ep realplex

**注意事项**

- 避免RNase污染。
- 为保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

