

2×miRNA qPCR Fluore Green Master Mix

miRNA qPCR 染料法预混液

产品简介

2×miRNA qPCR Fluore Green Master Mix 是专为 miRNA 定量检测而研发的新一代预混形式的荧光定量 PCR 检测试剂，含有特殊的 ROX Passive Reference Dye，适用于所有 qPCR 仪器，无需在不同的仪器上调整 ROX 浓度。DNA Polymerase 采用化学修饰的热启动聚合酶，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。

本产品必须与本公司的 miRNA 一链 cDNA 合成反转录试剂盒（加尾法，用于 qPCR）(Cat#N132068)配套使用，以获得最终的实验结果。

产品信息

货号	N132039E	N132039S
规格	100 T (20 μL/rxn)	500T (20 μL/rxn)

组分信息

组分编号	组分名称	N132036E	N132036S
N132039-A	2×miRNA qPCR Master Mix	1 mL	5×1 mL
N132039-B	RNase-free H ₂ O	2×1 mL	5×1 mL

储存条件

冰袋运输。-20℃避光保存，有效期 1 年。

注意事项

1. 使用前，将冻存的各组分充分融解并轻轻混匀后使用。
2. 实验时，请尽量使用无污染的耗材，避免污染。
3. 本产品避免反复冻融，配制时应避免强光照射。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅用于科研。

使用说明

1. 体系配制

- (1) 将试剂放置室温下融化，使用前上下颠倒，轻轻混匀，并轻微离心后使用，避免起泡。
- (2) 将试剂置于冰上，按照下表配制试剂。RNase-free H₂O 可替换为其他用于分子生物学实验的无核酸酶水。

【注】：没有混匀试剂、使用振荡器混匀、未在冰上配置试剂等会导致反应性能下降。

1) 荧光定量 PCR 体系配制

组分	体积 (μL)	体积 (μL)	终浓度
2×miRNA qPCR Master Mix	10 μL	25 μL	1 ×
Forward Primer (自备)	X	X	400 nM
Reverse Primer (10 μM)	0.8 μL	2 μL	400 nM
cDNA	X	X	-
RNase-free H ₂ O	Up to 20 μL	Up to 50 μL	-

【注】：1) miRNA 第一链 cDNA 的加入量不要超过 qRT-PCR 体积的 1/10。高浓度 cDNA 易导致非特异扩增，可对 cDNA 适当稀释 10-1000 倍。2) Reverse Primer (10 μM) 来源于试剂盒 N132068。由于专利的保密性，miRNA 加 A 法反转录后，cDNA 下游引物序列不同厂商之间存在差异，建议使用试剂盒 N132068，以保证最终的实验结果。

2. PCR 反应程序设置

可参考以下两个程序进行定量 PCR 反应。

a. 荧光定量 PCR 常规扩增程序（两步法）

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	10 min	1
变性	95°C	15 sec	35-40
退火/延伸	60°C	20 sec	
熔解曲线阶段	仪器默认设置		1

b. 荧光定量 PCR 快速扩增程序（两步法）

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	10 sec	1
变性	95°C	5 sec	40
退火/延伸	60°C	20 sec	
熔解曲线阶段	仪器默认设置		1

【注】：1) 退火/延伸温度和时间可根据实验要求适当调整。2) 常规程序与快速程序根据实验仪器选择，例如：ABI QuantStudio 5 等仪器可以进行快速程序设置，Bio-Rad CFX96 等仪器不可设置快速程序，需要进行常规程序设置。