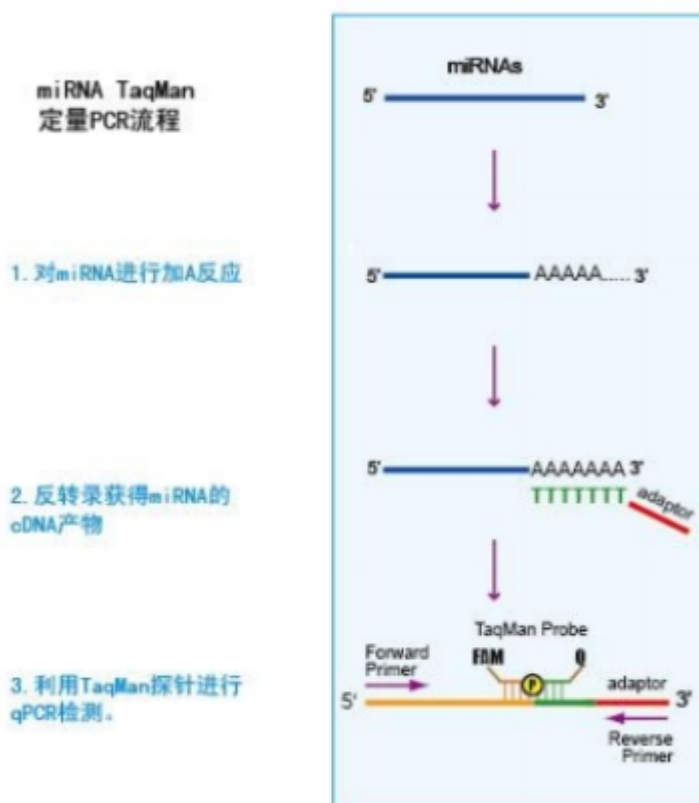


HG TaqMan miRNA 反转录试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述：

TaqMan miRNA 反转录试剂盒采用加 A 法进行反转录，加 A 法的反转录效率远高于茎环法，因此，采用该方法可极大的提高检测灵敏度（原理见图 1）。该试剂盒操作简单，仅需要两步即可轻松完成 miRNA 的 cDNA 合成，合成的 cDNA 可用于所有 miRNA 的后续定量检测。反转录完毕后采用特异性的上游引物和接头引物进行 PCR 扩增，FAM 标记 TaqMan 探针作为荧光报告基团进行定量检测（原理见图 1）。



组分

5×TaqMan miRNA RT Solution A	25 µl	100 µl
10×TaqMan miRNA RT Solution B	50 µl	200 µl
10×TaqMan miRNA RT Primer	50 µl	200 µl
RNase Free H ₂ O	1 ml	1 ml×2

储存: 请置于-20° C, 可保存 2 年; 避免反复冻融

操作方法

1 按以下组分在 0.2 ml EP 管中配制应液

<u>miRNA (5~100 ng/μl)</u>	<u>4 μl</u>
<u>5×TaqMan miRNA RT Solution A</u>	<u>1 μl</u>

注意: 不建议使用 Total RNA, Total RNA 试验结果通常差于 miRNA。

2 在 PCR 仪上按以下条件进行加 A 反应:

37 °C	30min
85 °C	5min

3 反应完毕后, 在上述 5 μl 反应体系中加入如下试剂, 并混合均匀。

<u>10×TaqMan miRNA RT Primer</u>	<u>2 μl</u>
<u>10×TaqMan miRNA RT Solution B</u>	<u>2 μl</u>
<u>H₂O</u>	<u>11 μl</u>

4 在 PCR 仪上按以下条件进行反转录反应:

30 °C	5min
55 °C	60min
95 °C	5min