

## TaqMan miRNA 反转录试剂盒(血清血浆)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述:

血清血浆 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)。

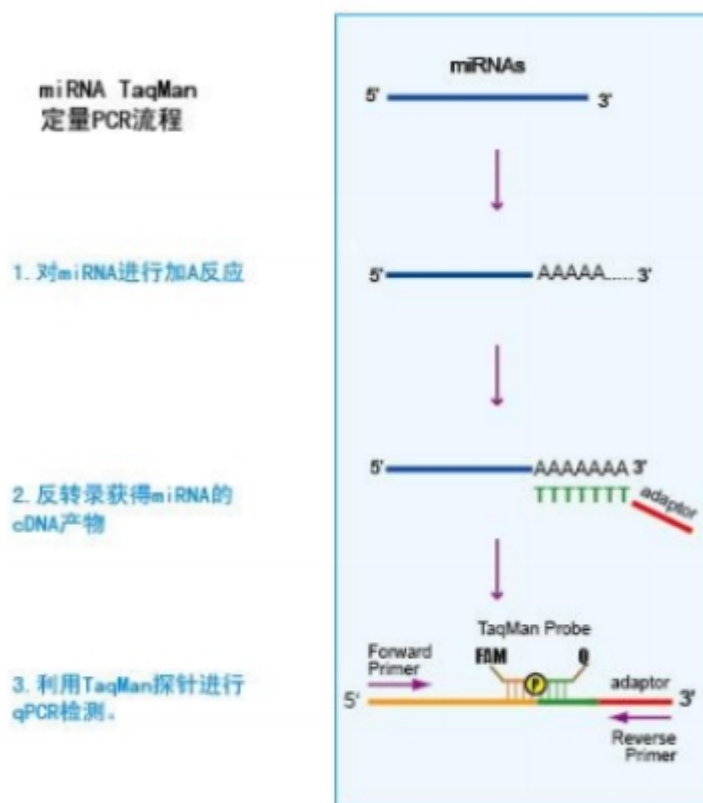


图 1, TaqMan miRNAs 定量检测原理

### 组分

|                               |       |        |
|-------------------------------|-------|--------|
| 5×TaqMan miRNA RT Solution A  | 65 µl | 250 µl |
| 10×TaqMan miRNA RT Solution B | 65 µl | 250 µl |
| 10×PS TaqMan miRNA RT Primer  | 65 µl | 250 µl |
| RNase Free H <sub>2</sub> 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>血清血浆 miRNA</u>                                     | <u>10 <math>\mu</math>l</u>  |
| <u>5<math>\times</math>TaqMan miRNA RT Solution A</u> | <u>2.5 <math>\mu</math>l</u> |

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 12.5  $\mu$ l 反应体系中加入如下试剂, 并混合均匀。

|                                                        |                              |
|--------------------------------------------------------|------------------------------|
| <u>10<math>\times</math>PS TaqMan miRNA RT Primer</u>  | <u>2.5 <math>\mu</math>l</u> |
| <u>10<math>\times</math>TaqMan miRNA RT Solution B</u> | <u>2.5 <math>\mu</math>l</u> |
| <u>H<sub>2</sub>O</u>                                  | <u>7.5 <math>\mu</math>l</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  |