

2 × miRNA Sybr Green qPCR Mix(Universal ROX)



北京艾德莱生物科技有限公司
Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

地址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130

电话：010-82796972/82795296 (Fax)

网址：www.aidlab.cn 技术 QQ: 328153626

包装量：

目录编号	包装单位
PC9001	125次 × 20 μl
PC9002	500次 × 20 μl

组成	PC9001	9002
2 × miRNA SYBR qPCR Mix (Universal ROX PreMixed)	1.25 ml	1.25 ml × 4

产品储存： -20°C 避光保存至少 12 个月。经常使用，解冻后可置于 4°C 保存 3 个月，避免多次冻融。

制品说明： 本产品是使用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 miRNA 定量反应的专用预混液。采用艾德莱特异的新型双封闭 HotStart Taq DNA Polymerase，配以特异的双阳离子缓冲液和多种特异性促进因子，增强特异性，减少引物二聚体的形成，使得结果更加准确可靠。本制品已加入特殊的通用 ROX 参比染料，适应于所有 qPCR 仪器，无需在不同的仪器上调整 ROX 的浓度，只需在配制反应体系时加入引物和模板即可进行扩增。

推荐与艾德莱 PC65-miRNA cDNA Kit (Stem Loop) 茎环法 miRNA 反转录试剂盒配套使用。

注意事项：

1. 本制品已加入特殊的通用ROX参比染料，具有高通用性，可用于各种仪器。无论是需要添加ROX的仪器（如ABI 的各种需要高ROX或者低ROX机型），还是不需要添加ROX的仪器（如Roche Light Cycler、Bio-Rad CFX96等机型），均适用于本制品。
2. 使用前请轻柔上下颠倒以混匀Master Mix，请勿vortex避免产生过量气泡，影响定量结果。Master Mix经混匀短暂离心后即可使用。
3. 本制品含SYBR Green I 强光下易分解，降低敏感度，使用时避免长时间强光照射本制品。
4. 建议在冰上配制PCR反应液，再放入PCR仪器中扩增。可以提高扩增特异性，减少背景。

建议PCR条件(以25, 50 μl反应体系为例，反应液配制请在冰上进行)

Components	Volume (20 μl)	Volume (50 μl)	Final Concentration
2 × miRNA SYBR qPCR Mix	10 μl	25 μl	1 ×
DNA Template	1 μl	2 μl	as required
Forward Primer (10 μM) ^a	0.4 μl	1 μl	0.2 μM each
Reverse Primer (10 μM) ^b	0.4 μl	1 μl	0.2 μM each
ddH ₂ O to final volume	20 μl	50 μl	Not applicable

a: 正向引物：自行设计的miRNA基因上游引物。

b: 反向引物：茎环法miRNA检测通用下游引物（参考艾德莱货号：PC65-miRNA cDNA Kit (Stem Loop)，引物序列：5'-AGTGCAGGGTCCGAGGTATT- 3'

PCR 循环 (二步法)

95°C 2 min

95°C 15 sec

60°C 30-34 sec



40 cycles

Dissociation Stage

PCR 循环 (三步法)

95°C 2 min

95°C 15 sec

60°C 15-20 sec

72°C 20-30 sec



40 cycles

Dissociation Stage

说明：本制品兼容性强，适用于不同厂家、型号的荧光定量PCR仪，绝大多数情况下使用二步法和三步法均可获得良好效果。在实际使用中可以根据机型推荐和具体情况对程序加以微调。一般来说，二步法扩增特异性高，三步法扩增效率高。如果融链曲线较差，可以尝试两步法扩增；若因使用T_m值较低的引物等原因，得不到良好的实验结果时，可尝试加长延伸时间或者进行三步法PCR扩增。