

产品简介

miDETECT™ miRNA qRT-PCR Standard RNA 是经过特殊方式纯化的成熟 miRNA 单链，纯度高，适用于各种 miRNA 定量检测实验。

运输保存

产品为干粉状态，**常温运输**。收到产品后，请于-20℃以下**低温保存**，可以稳定保存一年。

实验方法

1. 使用前须知

1) 为避免外界因素(包括酶, 极端 pH 或者温度等)导致产品降解, 所有操作请严格遵循 RNA 操作规范, 采用 RNase-free 耗材。

2) 使用前需瞬时离心, miDETECT™ miRNA qRT-PCR Standard RNA 加入适量 RNase-free H₂O (表 1), 振荡以充分溶解, 配置成终浓度为 10μM Standard RNA 储存液, 分装保存。

表 1 样品浓度稀释梯度

miDETECT™ miRNA qRT-PCR Standard RNA	0.25 nmol	1 nmol
RNase-free Water	25 μL	100 μL

3) 为避免反复冻融, 请取出部分进行实验, 剩余部分于-20℃以下保存。

4) 实验过程中, 产品需全程冰上放置, 使用完毕后于-20℃以下保存。

2. 梯度稀释

1) 取 5 μL miDETECT™ miRNA qRT-PCR Standard RNA 储存液, 加入 45 μL RNase-free Water, 配置浓度为 1 μM 的梯度 1 样本;

2) 取梯度 1 样本 5 μL 加入 45 μL RNase-free Water 配置为 100nM 的梯度 2 样本;

3) 依次取梯度[N]样本 5 μL 加入 45 μL RNase-free Water 配置浓度低一个数量级的梯度[N+1]样本;

4) 一般选取梯度 5~梯度 10 进行 miRNA qRT-PCR 实验, 以绘制标准曲线。

表 2 样品浓度稀释梯度

梯度	1	2	3	4	5*	6*	7*	8*	9*	10*	11
浓度	1μM	100nM	10nM	1nM	100pM	10pM	1pM	100fM	10fM	1fM	10 ⁻¹ fM

注: 1) *常用的标准曲线梯度; 2) 由于标准曲线绘制对移液设备的取样精度要求较高, 需精确量取。

3. 曲线绘制

以浓度(或 log 值)为横坐标，Ct 值为纵坐标，绘制标准曲线。

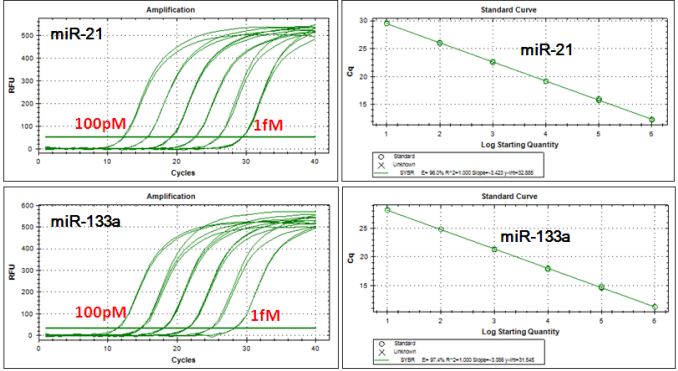


图1 以 miDETECT™ qRT-PCR Standard RNA (hsa-miR-21-5p 和 hsa-miR-133a-3p) 为标准品模板，采用 1fM 至 100pM 多个浓度梯度进行 miDETECT A Track™ miRNA qRT-PCR 表达检测及标准曲线绘制，左图为扩增曲线，右图为标准曲线

4. 绝对定量

将 miRNA 检测 Ct 值与标准曲线比较，准确计算 miRNA 的拷贝数量。