**血浆miRNA检测试剂盒**

**货号：KTSM3103**

**■ 产品简介：**

本试剂盒采用全新技术从外泌体中直接检测miRNA，无需进行耗时长，操作繁琐的RNA提取，操作快速简便，15 min即可获得含miRNA的上清液，且不使用任何有机试剂。

本试剂盒包含特异的miRNA检测引物，包括逆转录引物，qPCR的上游和下游引物。

本试剂盒包含miRNA的加尾和逆转录试剂，加尾和逆转录在同一个反应体系中同时进行，可快速且高效地获得qPCR检测模板。试剂中含有特异的逆转录引物，只需加入适量含miRNA的上清液和RNase-free ddH2O补齐体系。

本试剂盒还包含qPCR检测试剂，含有特异的检测引物，只需加入适量逆转录产物和RNase-free ddH2O补齐体系。

本试剂盒为科研工作者提供了非常简便、灵敏、高效、快速的miRNA检测服务。

**■产品组成**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **包装规格（30 preps）** |
| 裂解液RL（Buffer RL） | 1支 |
| 蛋白酶K | 1支 |
| miR-cel-54 | 1支 |
| 2×polyA+RT mix | 1支 |
| 2×qPCR mix | 1支 |
| RNase-free ddH2O | 1支 |

**■保存**：

该试剂盒的裂解液RL置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8℃。其余试剂置于-20℃条件下可保存12个月以上，miR-cel-54应避免多次冻融，可进行小量分装。

**■操作步骤**：

1. 新的RNase-free离心管中加入20 μl外泌体；

2. 按顺序加入0.5 μl miR-cel-54，1 μl蛋白酶K，20 μl裂解液RL，涡旋混匀10s；

**注意：当所需样本体积较大时，可以按比例加入各试剂，混合后迅速进行后续操作。**

3.60℃孵育5 min，迅速转入95℃孵育3 min，迅速置于冰上2 min；

4. 4℃ 13000×g离心5 min；

5. 将含RNA的上清液转入新的RNase-free离心管中，置于-20℃保存或直接用于下游加尾及逆转录实验；

6. 按如下体系和条件进行加尾和逆转录：

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **用量** |
| 2×polyA+RT mix | 10 μl |
| RT Primer mix(0.5 μM) | 2 μl |
| RNA | x μl |
| RNase-free ddH2O | to 20 μl |

37℃ 15 min，42℃ 50 min，75℃ 5 min。

7. 逆转录产物可适当稀释或直接作为qPCR模板，qPCR反应按如下体系和条件进行：

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **用量** |
| 2×qPCR mix | 10 μl |
| cDNA | x μl |
| RNase-free ddH2O | to 20 μl |

94℃ 10 min，94℃30 sec，60℃30 sec，40 Cycles。