

版本号：FPH1725

FineDirect Viral DNA qPCR Kit

FineDirect DNA 病毒直接法 qPCR 试剂盒

目录号：FP801

产品内容：

产品组成	FP801
病毒浓缩液	24 ml
2×Lysis Buffer	4.8 ml
5×Direct qPCR Buffer	0.48 ml
1M MgCl ₂	0.2 ml

储存条件：

本试剂盒组分可在2-8℃长期保存，有效期为12个月。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介：

本试剂盒采用了具有专利配方的缓冲体系，包含了直接裂解 DNA 病毒和 qPCR 扩增的 Buffer 体系，适用于从血清、血浆、棉拭子洗脱液和尿液等样本中直接进行 DNA 病毒的 qPCR 检测。整个提取过程不包含蛋白酶消化，高温孵育，去蛋白及其它杂质的过程，无需有机溶剂抽提，无需无水乙醇沉淀，简便、快捷，而且质量稳定可靠。

本试剂盒提供的 5x Direct qPCR Buffer 是一种扩增兼容性很强的 qPCR 试剂，无需彻底去除蛋白等杂质，便能进行高效特异扩增，该试剂包含了反应缓冲液、PCR 反应的增强剂及稳定剂，具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，尤其适用于临床分子诊断产品的开发。

产品特点：

简单快速：10 分钟即可完成病毒基因组 DNA 的提取。

普适性强：适用于血清、血浆、棉拭子洗脱液和尿液等样本。

兼容性强：qPCR 试剂适用于检测各种来源样本的 DNA，也可用于普通 PCR 扩增。

分子诊断：适合于乙肝、HPV、STD、EBV 和 CMV 等 DNA 病毒的检测。

注意事项：

1. 试剂盒不具备独立的体外诊断作用，不可作为诊断试剂。
2. 2xLysis Buffer 必须和 5xDirect qPCR Buffer 联合使用，使用其他公司 PCR 反应液会有实验失败的风险。

操作步骤：

1. 使用本试剂盒时，取出病毒浓缩液、2xLysis Buffer 与 5xDirect qPCR Buffer，待平衡至室温后，将这三种组分充分混匀。
2. 处理样本：
 - a. 如提取样本为血浆或血清，可直接在样本中加入等体积的 2xLysis Buffer，静置 10 min 后取 5-10 μ l 上清做 qPCR 模板。
 - b. 如提取样本为棉拭子洗脱液或尿液，需要先进行样本浓缩，操作步骤如下：
 - b1. 向 1.5ml 离心管中加入 100-500 μ l 待测样本，然后加入等体积的病毒浓缩液，

颠倒混匀后 12,000 rpm 离心 10 min, 去掉上清。

b2. 向 b1 步骤沉淀中加入 50-100 μl 1 \times Lysis Buffer(用灭菌 ddH₂O 将 2 \times Lysis Buffer 稀释成 1 \times Lysis Buffer), 上下颠倒或吹吸混匀。

b3. 静置 10 min 后直接取 5-10 μl 上清做 qPCR 模板。

3. qPCR 扩增:

反应举例

组成成分	单人份用量
模板 DNA	5-10 μl
5 \times Direct qPCR Buffer	10 μl
MgCl ₂ (1 M)	0.2-1 μl
dNTPs (25 mM) (自备)	0.5-2 μl
Primer F (50 pmol/ μl) (自备)	0.3-0.5 μl
Primer R (50 pmol/ μl) (自备)	0.3-0.5 μl
Taqman Probe (50 pmol/ μl) (自备) (普通 PCR 不需要)	0.15-0.3 μl
Taq DNA 聚合酶 (5 U/ μl) (自备)	0.5-2 μl
灭菌 ddH ₂ O	补足到 40 μl

试剂全部加好后, 混匀后瞬时离心, 将所有试剂收集到管底。

反应条件:

根据所使用 DNA 聚合酶确定反应条件, 根据引物 (探针) 设计确定退火温度。

结果检测:

对于 qPCR, 反应结束后确认 qPCR 的扩增曲线, 并进行相应分析。

对于普通 PCR, 反应结束后取 5 μl 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。

注意: 举例仅供参考, 实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据实际情况设定最佳反应条件。

注意: 在操作中如发现管壁或管盖上有液体可以瞬时离心将其甩至管底。