

版本号：FP20171104

## FineDirect Tissue DNA qPCR Kit

### 组织 DNA 直接法 qPCR 检测试剂盒

目录号：FP807

#### 产品内容：

产品组成	FP806-48
核酸提取液1	4.8ml
核酸提取液2	4.8 ml
2× Direct qPCR Mix	1.25 ml
Taq DNA Polymerase	96 μl

#### 储存条件：

核酸提取液1和核酸提取液2在室温（15-25 °C）干燥条件下可保存 12个月；2× Direct qPCR Mix和酶液在-20°C条件下可长期保存，如需经常使用，可存放于4°C。

### 产品简介：

本试剂盒采用独特的包装体系，包含了快速制备DNA试剂和qPCR扩增的所需要的缓冲体系，适用于从动物组织病料中直接提取DNA，并用于后续的qPCR扩增和检测。整个提取过程不包含去蛋白其它次生代谢物的过程，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2×Direct qPCR Mix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，具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，特别适合于高通量的筛选。

### 产品特点：

**简单快速：**简单快速：无需液氮，5 min即可快速提取各种动物组织DNA。

**兼容性强：**qPCR 试剂适用于提取的各种来源样本的 DNA 扩增。

**分子诊断：**适合于 DNA 病毒的快速检测。

### 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. 应严格控制组织病料的取样量，建议用量为 5-10mg（一颗到半颗大米大小），取样量太多容易造成假阴性结果；具体情况参考下图：



### 操作步骤：

1. 第一次使用本试剂盒时，请仔细查看两种缓冲液中是否有结晶析出，如有结晶请将两种核酸提取液于室温充分平衡至结晶完全溶解，或在37°C水浴中重新溶解沉淀后使用。两种缓冲液溶解后在室温保存。
2. **组织类样本：**
  - 2.1 取少量样品（**5-10mg一颗到半颗大米大小**）于1.5 ml的离心管中，加入100 μl核酸提取液1，确保缓冲液可以完全覆盖样品。
  - 2.2 用组织研磨器充分研磨。研磨结束后，加入100 μl核酸提取液2，震荡混匀，12,000

**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。**

rpm 离心2 min。

2.3离心结束后，小心吸取100  $\mu$ l上清液于另一干净的1.5 ml离心管中作为模板备用。

**必须现处理现用**

#### 4. PCR 扩增反应。

组成成分	单人份用量
模板 DNA	2 $\mu$ l
2× Direct qPCR Mix	25 $\mu$ l
Taq DNA Polymerase	2 $\mu$ l
Primer F (50pmol/ $\mu$ l) (自备)	0.3-0.5 $\mu$ l
Primer R (50pmol/ $\mu$ l) (自备)	0.3-0.5 $\mu$ l
Taqman Probe (50pmol/ $\mu$ l) (自备) (普通 PCR 不需要)	0.15-0.3 $\mu$ l
灭菌 ddH <sub>2</sub> O	补足到 50 $\mu$ l

试剂全部加好后，混匀后瞬时离心，将所有试剂收集到管底。

#### 5. 反应条件：

步骤		温度	时间	循环数
1	DNA 预变性	95°C	1 分钟	1
2	变性	95°C	15 秒	40
	退火，延伸及荧光采集	55±5°C	30 秒	

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RT-PCR，反应结束后取5  $\mu$ l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。