

版本号: FPI1614

FineDirect Blood DNA qPCR Kit

FineDirect 血液基因组直接 qPCR 试剂盒

目录号: FP804

产品内容:

产品组成	FP804-01 48T
Buffer FL	2×5 ml
2xLysis Buffer	4.8 ml
5xDirect qPCR Buffer	0.48 ml
1M MgCl ₂	0.2 ml

储存条件:

本试剂盒组分可在-20℃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，包含了细胞裂解液 FL，直接裂解细胞核的试剂 2xLysis Buffer 和 qPCR 扩增的 Buffer 体系，适用于从血液样本中直接进行 DNA 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：12 分钟即可完成血液基因组 DNA 的释放。

普适性强：适用于各类血液样本。

兼容性强：qPCR 试剂适用于检测各种血液样本的 DNA，也可用于 SNP 分型和普通 PCR 扩增。

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 Buffer CL、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. 向 50 μ l 全血样本中加入 100 μ l Buffer FL，颠倒混匀，10,000 rpm 离心 1 min，吸弃上清，留下胞核沉淀。

注意：如果裂解不彻底，可以加入 100 μ l Buffer FL 重复裂解一次。
 - b. 向细胞核沉淀中加入 25 μ l 2xLysis Buffer，振荡混匀，室温 10 min。
 - c. 10,000 rpm 离心 1 min，离心后取 5 μ l 2xLysis Buffer 上清做模板进行 qPCR 扩增。
3. qPCR 扩增：

反应举例:

组成成分	单人份用量
模板 DNA	5-10 μl
5xDirect qPCR Buffer	10 μl
1 M MgCl_2	0.5 μl (可在 0.2-1 μl 范围内优化)
25 mM dNTPs (自备)	1.5 μl (可在 0.5-2 μl 范围内优化)
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
FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase (5 U/ μl) (自备)	0.4 μl (可在 0.4-2 μl 范围内优化)
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。