

版本号: FPI1614

FineDirect Viral RNA qRT-PCR Kit

FineDirect RNA 病毒直接法 qRT-PCR 试剂盒

目录号: FP710

产品内容:

产品组成		FP710-02
A部分	直扩qRT-PCR反应液	2×1140 μl
	直扩qRT-PCR酶混合液	120 μl
	阴性对照	1000 μl
B部分	裂解液B1	30 ml
	裂解液B2	30 ml

储存条件:

A部分试剂可在-20℃及以下保存12个月, B部分试剂可在室温(15-25℃) 干燥条件下保存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 RNA 病毒的裂解液 B1，裂解液 B2，直扩 qRT-PCR 反应液，直扩 qRT-PCR 酶混合液和直扩 qRT-PCR 阴性对照，适用于从各种血液及组织病料样本中直接进行 RNA 病毒的 qRT-PCR 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。

本试剂盒提供的直扩 qRT-PCR 反应液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： 无需液氮，5 min 即可完成病毒 RNA 提取。

普适性强： 适用于各种组织病料、血液等样本。

兼容性强： qRT-PCR 试剂适用于检测各种来源样本的 RNA。

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. 组织类样本：

- 1.1 取少量样品（5-10 mg，一颗到半颗大米大小）于1.5 ml 的离心管中，加入100 μ l

裂解液 B1，确保缓冲液可以完全覆盖样品。

1.2 用组织研磨器充分研磨。研磨结束后，加入100 μl 裂解液B2，震荡混匀，12,000 rpm 离心2 min。

1.3 离心结束后，小心吸取100 μl 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。

2. 血液类样本：

取40 μl 血液加入到100 μl 裂解液B1中，混匀后加入100 μl 裂解液B2，再涡旋混匀，此混合液即可作为模板进行后续 qRT-PCR 检测。

必须现处理现用。

3. qRT-PCR 扩增反应：

组成成分	单人份用量
直扩 qRT-PCR 反应液	38 μl
直扩 qRT-PCR 酶混合液	2 μl
直扩 qRT-PCR 引物探针	5 μl
模板	5 μl
总量	50 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。

直扩 qRT-PCR 引物探针配制（建议）：

引物探针母液	直扩qRT-PCR引物	单人份用量
	探针mix中终浓度	
Primer F(40 pmol/ μl)	4 pmol/ μl	5 μl
Primer R(40 pmol/ μl)	4 pmol/ μl	
Taqman Probe(20 pmol/ μl)	2 pmol/ μl	

4. qRT-PCR反应条件：

按下表进行qRT-PCR程序设置：

步骤	温度	时间	循环数
1	50 °C	10 min	1 cycle
2	95 °C	3 min	1 cycle
3	95 °C	10 sec	40 cycles
	60 °C（此步收集荧光）	30 sec	

根据引物（探针）设计确定退火温度。

结果检测：

对于qRT-PCR，反应结束后确认qRT-PCR的扩增曲线，并进行相应分析。

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。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。