

# M5 HiPer Direct Viral DNA qPCR Kit

## 病毒 DNA 直接 qPCR 检测试剂盒

### 使用说明书

Product	Unit	Cat.#
M5 HiPer Direct Viral DNA qPCR Kit	50Tx50ul	MF720-01

#### 【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 病毒的裂解液 B1，裂解液 B2，直扩 qPCR 反应液，直扩 HotStart Taq 酶和阴性对照，适用于从各种血液及组织病料样本中直接进行 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。

本试剂盒提供的直扩 qPCR 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。

#### 【产品组成及保存温度】

	体积	储存温度
直扩 qPCR 反应液	2×1140 μl	-20°C
直扩 HotStart Taq 酶	120 μl	-20°C
阴性对照	1000 μl	-20°C
裂解液 B1	30 ml	RT
裂解液 B2	30 ml	RT

#### 【产品特性】：

- 1、简单快速：无需液氮，5 min 即可完成病毒 DNA 提取。
- 2、普适性强：适用于各种组织病料、血液等样本。
- 3、兼容性强：qPCR 试剂适用于检测各种来源样本的 DNA。

#### 【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  $\mu$ 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 上清液于另一干净的 1.5 ml 离心管中作为模板备用。

**注意：必须现处理现用。**

## 2. 血液类样本：

取 40  $\mu$ l 血液加入到 100  $\mu$ l 裂解液 B1 中，混匀后加入 100  $\mu$ l 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。

**注意：必须现处理现用。**

## 3. qPCR 扩增反应

组成成分	单人份用量
直扩 qPCR 反应液	38 $\mu$ l
直扩 HotStart Taq 酶	2 $\mu$ l
直扩 qPCR 引物探针	5 $\mu$ l
模板	5 $\mu$ l
总量	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。

直扩 qPCR 引物探针配制（建议）：

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

## 4. qPCR 反应条件：

按下表进行 qPCR 程序设置：

步骤	温度	时间	循环数
1	95 $^{\circ}$ C	3 min	1 cycle
2	95 $^{\circ}$ C	15 sec	40 cycles
	60 $^{\circ}$ 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 qPCR，反应结束后确认 qPCR 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。

Please note: All products are "FOR RESEARCH USE ONLY AND ARE NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE"