

CAT#:GZ020902



兔 RNA 提取 qRT-PCR 试剂盒

使用手册 V2.1

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本试剂盒包含了直接裂解 RNA 病毒的裂解液 B1, 裂解液 B2, 2 × One-Step qRT-PCR Buffer, RTase/Taq Mix, 适用于从各种血液及组织病理样本中直接进行 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:

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

成分规格

组成名称	规格
2 × One-Step qRT-PCR Buffer	1100 μl
RTase/Taq Mix	50 μl
DEPC-H ₂ O	1000 μl
裂解液 B1	30 ml
裂解液 B2	30 ml

保存条件

裂解液 B1 和裂解液 B2 可常温放置, 其余组分需要在 -20℃ 保存, 有效期为 24 个月。

使用方法

(注意: 试剂盒不具备独立的体外诊断作用, 不可作为诊断试剂。应严格控制病理组织的取样量, 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。)

一、RNA 释放

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 μ 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 μ 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 μ l 血液加入到 100 μ l 裂解液 B1 中，混匀后加入 100 μ 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。

二、qRT-PCR 扩增

1. qRT-PCR 扩增反应

推荐反应体系（20 μ l）

试剂	用量
2 x One-Step qRT-PCR Mix	10 μ l
RTase/Taq Mix	1 μ l
直扩 qRT-PCR 探针(10mM)	0.5 μ l
直扩 qRT-PCR Primer F (10 μ M)	0.5 μ l
直扩 qRT-PCR Primer R (10 μ M)	0.5 μ l
模板	2 μ l
ddH ₂ O	Up to 20 μ 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。

一般引物终浓度为 2 pmol/ μ l，探针终浓度为 4 pmol/ μ l。

2. qRT-PCR 反应条件：

按下表进行 qRT-PCR 程序设置：

过程	温度	时间
反转录	50 $^{\circ}$ C	10 min

	预变性	95°C	3 min
40 cycles	变性	95°C	10 sec
	退火和延伸	60°C (此步收集荧光)	30 sec

根据引物（探针）设计确定退火温度。

三、结果监测

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。）

关联产品

产品编号	产品名称
GZ020302-50	cDNA 第一链合成试剂盒（去除基因组）
GZ020401-50	一步法 RT-PCR 扩增试剂盒
GZ020402-50	一步法 RT-PCR 扩增试剂盒（去除基因组）
GZ020101-1	2×Taq PCR MasterMix（含染料）
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ070104	6×Loading Buffer
GZ070105	50×TAE
GZ070106	10×TBE
GZ020701-1	2 × Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2×SYBR qPCR Mix



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯