



QuickScript III Direct One Step qRT-PCR Probe Kit

货号	规格
BDAG0024-100rxn	100 rxn(25uL/rxn)
BDAG0024-500rxn	500 rxn(25uL/rxn)
BDAG0024-1000rxn	1000 rxn(25uL/rxn)

运输：冰袋运输，储存：-20℃保存可保存 12 个月。

试剂组分：

组分名称	货号		
	BDAG0024-100rxn (100 rxn* ¹)	BDAG0024-500rxn (500 rxn* ¹)	BDAG0024-1000rxn (1000 rxn* ¹)
2×One Step qRT-PCR Reaction	1.25mL	6.25mL	12.5mL
Buffer			
QuickScript Enzyme Mix	100 μL	500 μL	1mL
RNase-free water	1.5 mL	7.5 mL	15 mL
ROX Reference I or II (50×) * ²	50 μL	250 μL	500 μL
Buffer RLB15(2×)	1.2mL	6 mL	12 mL

*1 备注：rxn是指反应体系为 25 μL。

*2 备注：ROX Reference 为选配试剂，非标准配置。默认无。不同型号Real-Time PCR 仪，使用方法如下：

1. **ROX Reference I (50×)** 为高浓度ROX，适用于如下型号Real Time PCR 仪：

- Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；
- Applied Biosystems 7900 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；
- Step One Plus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。

2. **ROX Reference II (50×)** 为低浓度ROX，适用于如下型号Real Time PCR 仪：

- Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；
- Applied Biosystems 7500 FAST Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。

3. 当使用于如下型号Real Time PCR 扩增仪时，无需加入**ROX Reference**：

- Roche、Bio-Rad、TaKaRa 等其它无需加入ROX 校准染料的Real-Time PCR 仪。

产品描述：

本试剂盒是专为无需提取的 RNA 为模板进行荧光定量 PCR 检测的试剂盒。在实验过程中，使用基因特异性引物，逆转录反应和 qPCR 反应可在同一管中完成，使操作更为简便，同时降低了污染的风险。

产品中使用了经过定向改造的 Script III 逆转录酶，以及抗体封闭的热启动聚合酶 Taq Hot-Start DNA Polymerase，配合条件优化的缓冲体系，使得检测灵敏度及特异性都大幅提升，检测灵敏度可达到 10 拷贝以下的 RNA 模板。

产品特点

1. RNA 无需提取，直接以粗样本中的 RNA 为模板进行扩增检测。
2. 逆转录反应及 qPCR 反应在同一反应管中完成；
3. 检测灵敏度高，可完成低至 10 拷贝以下的 RNA 模板检测。

扩增体系和条件

1. 样本制备

- (1) 取出核酸释放剂 Buffer RLB15(2×)在室温下充分混匀；
- (2) 将鼻、咽拭子样本（生理盐水或者 VTM 基质）与核酸释放剂 Buffer RLB15(2×)按 1:1 的比例进行混合裂解，涡旋振荡，使其充分混匀，室温静置 2-5min 瞬离后即可使用，建议模板加入量为反应体系的 10%-20%。
- (3) 或者将样本（生理盐水或者 VTM 基质）在 12000rpm 条件下离心 2-5min，弃掉上清，在沉淀细胞中加入 50-100μL Buffer RLB15(1×)，涡旋混匀，室温静置 2-5min 瞬离后即可使用，建议模板加入量为反应体系的 10%-20%。

2. 反应体系准备

组分	体积 (μL/ rxn)		终浓度
	Mix A	Mix B	
2×One Step qRT-PCR Reaction Buffer	12.5	25	1×
QuickScript Enzyme Mix	1	2.5	/
ROX Reference (50×)	0.5	1	1×
Forward Primer (10 μM)*1	0.5	1	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)* 1	0.5	1	0.2 μM
Probe (10 μM)	0.5	1	0.2 μM
Template*2	Variable	Variable	/
Rnase-free water	To 25	To 50	/
总体积/rxn	25	50	

备注：

*1: 0.2 μM 终浓度的引物(Primer)和探针(Probe)，可满足大部分的实验要求，用户亦可根据实际情况对引物和探针浓度进行调整。

*2: 模板加入量建议在反应总体积的10%-20%范围内进行调整。

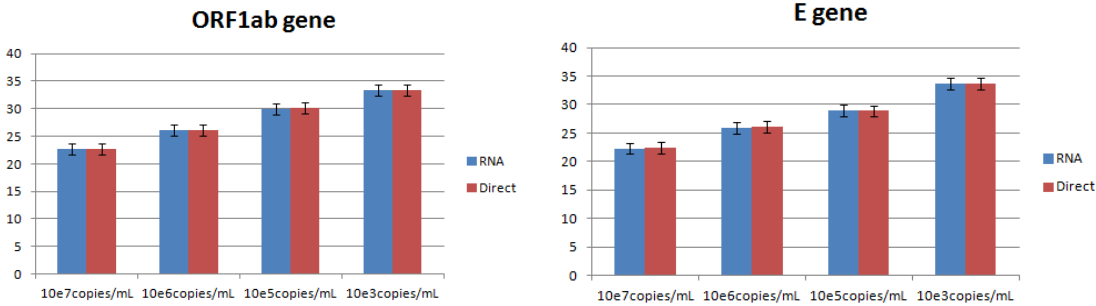
3. 反应程序

步骤	温度	时间	循环
Reverse Transcription	50°C	10 min*1	1 Cycle
Initial Denaturation	95°C	1 min	1 Cycle
Denaturation	95°C	10 sec	45 Cycles
Annealing / Extension / Data Collection	60°C	1 min*2	

*1: 快速检测程序可将逆转录时间适当缩短至5min左右;

*2: 快速检测程序可将延伸反应时间适当缩短至30sec左右;

应用实例



实验条件为新冠假病毒为模板，分别对提取和未提取(直扩)的新冠假病毒检测 E 基因和 Orf1ab，经检测表明，提取和直扩的结果在 Ct 值和灵敏度上没有差异。

注意事项

1. 使用前将 2×One Step qRT-PCR Reaction Buffer 上下轻柔颠倒数次，确保各试剂成份完全混匀，并短暂离心收集试剂至容器底部。试剂未充分混匀可能导致反应性能下降;
2. QuickScript Enzyme Mix 在开盖使用前，请进行短暂离心，收集液体至离心管底部;
3. 配制 PCR 反应 Mix 时，各成份依次加入后需涡旋混匀并进行短暂离心;
4. 务必避免样本被核酸酶污染，否则会造成扩增反应出现困难的情况;
5. ROX Reference 对光敏感，应避免强光照射;