

无形体属通用探针法 qPCR 试剂盒

Anaplasma spp. Probe qPCR Kit

CAT#: BN61121

低温运输, -20℃保存

<p>产品及特点</p>	<p>无形体 (<i>Anaplasma</i>, 又叫无浆体) 几乎没有细胞浆, 呈致密的、均匀的圆形结构, 姬姆萨染色呈紫红色。它引起反刍动物无形体病 (<i>Anaplasmosis</i>)。该病是一种慢性和急性传染病, 其特征为高热、贫血、消瘦、黄疸和胆囊肿大。本病呈世界性分布。由于该病是一种寄生于细胞内的寄生菌, 主要通过蜱 (也叫壁虱) 叮咬传播。该病临床症状与某些病毒性疾病相似, 容易发生误诊, 严重者可导致死亡。因此快速灵敏诊断无形体具有重要意义。本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测无形体的试剂盒, 它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用, 用户只需要提供样品 DNA 模板。 2. 引物和探针经过优化, 分析灵敏性高, 可以达到 100 拷贝/μL。 3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。 4. 特异性高, 引物是根据无形体 DNA 高度保守区设计, 不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。 5. In silico 分析本产品可以检测边缘无形体 (<i>A. marginale</i>)、中央无形体 (<i>A. centrale</i>) 和绵羊无形体 (<i>A. ovis</i>)。 6. 既可用于定性检测, 又可用于定量检测。用于定量检测时线性范围至少为 5 个数量级。 7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。 8. 本产品只能用于科研。 																							
<p>规格及成分</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×Probe qPCR MagicMix</td> <td>60001</td> <td>0.5 mL</td> </tr> <tr> <td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td> <td>60002</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>60003</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>无形体属通用 qPCR 引物-探针混合液</td> <td>61121-4</td> <td>150 μL</td> </tr> <tr> <td>无形体属通用 qPCR 阳性对照 (1×10⁷ 拷贝/μL)</td> <td>61121-5</td> <td>50 μL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td></td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成分	编号	包装	2×Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL	荧光 PCR 专用模板稀释液	60002	1 mL	超纯水	60003	1 mL	无形体属通用 qPCR 引物-探针混合液	61121-4	150 μL	无形体属通用 qPCR 阳性对照 (1×10 ⁷ 拷贝/ μL)	61121-5	50 μL	使用手册		1 份
成分	编号	包装																						
2×Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL																						
荧光 PCR 专用模板稀释液	60002	1 mL																						
超纯水	60003	1 mL																						
无形体属通用 qPCR 引物-探针混合液	61121-4	150 μL																						
无形体属通用 qPCR 阳性对照 (1×10 ⁷ 拷贝/ μL)	61121-5	50 μL																						
使用手册		1 份																						

本产品仅用于科研

运输及保存	低温运输, -20℃保存, 保存期限为 12 个月。
自备试剂	样品 DNA。
使用方法	<p>一、稀释标准曲线样品 (以 10E1-10E6 拷贝/μL 这 6 个 10 倍稀释度为例)。由于标准品浓度非常高, 因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行, 千万不能污染样品或本试剂盒的其他成分)。为增加产品稳定性和避免扩散传染性病原, 本产品不提供活体样品做阳性对照, 只提供无传染性的 DNA 片段作为阳性对照。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 标记 6 个离心管, 分别为 6, 5, 4, 3, 2, 1。 2. 用带芯枪头分别加入 45 μL 荧光 PCR 专用模板稀释液, 最好用带芯枪头, 下同)。 3. 在 6 号管中加入 5 μL 1×10^7 拷贝/μL 的阳性对照 (试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得 1×10^6 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。 4. 换枪头, 在 5 号管中加入 5 μL 1×10^6 拷贝/μL 的阳性对照 (上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 1×10^5 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。 5. 换枪头, 在 4 号管中加入 5 μL 1×10^5 拷贝/μL 的阳性对照 (上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 1×10^4 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。 6. 重复上面的操作直到得到 6 个稀释度的标准曲线样品。放冰上待用。 <p>二、样品 DNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none"> 7. 如果有 N 个样品, 最好设置 N+2 个提取, 多出的一个是 PC (样品制备阳性对照), 一个是 NC (样品制备阴性对照)。可以用 10 μL 上步所得 4 号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次制备要求的体积一样, 以此作为 PC。另外用水作为 NC。 8. 用自选方法纯化样品的 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的免提取核酸释放剂。 <p>三、Probe qPCR 反应 (20 μL 体系, 在样品制备室进行)</p> <ol style="list-style-type: none"> 9. 如果做定量分析并且只做 1 次重复, 则标记 N+9 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品, 1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板), 6 个用于标准曲线。如果做定性分析并且只做 1 次重复, 则标记 N+4 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品, 1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板), 1 个用于 PCR 阳性对照 (直接用第 6 步第 4 号管的阳性对照稀释液做模板)。下面只以定量分析为例描述操作步骤。 10. 在标记管中按下表加入各成分 (本表只列出一次重复。样品管和阴性对照设置完毕后才设置阳性对照, 并且阳性对照样品要等所有管子盖上盖子储存好后最后加):

成分	样品管 N+2 个	PCR 阴性对 照	标准曲线样品 管 (1-6 管)
2×Probe qPCR MagicMix	各 10 μL	10 μL	各 10 μL
无形体通用 qPCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	各 3 μL
N+2 个待测 DNA 样本	各 7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加
第 6 步所得标准曲线样品稀释 液 (1-6 号)	不加	不加	各 7 μL (2 号样 到 2 号管, 3 号 样到 3 号管...)

11. 盖上盖子后上机, 按下面参数进行 PCR:

过程	温度	时间
预变性	95℃	10 min
PCR 反应 (45 个循环)	95℃	15 sec
	60℃	60 sec (采集 FAM 通道的荧光信号, TAMRA 为淬灭基团)

五、数据处理

12. 如果把本试剂盒用于定量检测, 则以阳性对照浓度的 log 值为横轴, 以 Ct 值为纵轴, 绘制标准曲线。再以待测样品的 Ct 值从标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值, 再推算出其浓度。
13. 如果把本试剂盒用于定性检测, 只判断阳性或阴性, 则阴性对照 Ct 必须大于或等于 40。阳性对照必须有荧光对数增长, 有典型扩增曲线, Ct 值应该小于或等于 35。对待测样品, 如果其 Ct 大于或等于 40 则为阴性, 如果小于或等于 35 则为阳性。如果在 35-40 之间, 则重复一次。重复实验的 Ct 值如果大于或等于 40 则为阴性, 如果小于 40, 则为阳性。

关联产品

无形体荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒