

解没食子酸链球菌探针法qPCR试剂盒（不含内参）

Streptococcus gallolyticus Probe qPCR Kit

CAT#: BN64916

低温运输，-20℃保存

产品及特点

解没食子酸链球菌 (*Streptococcus gallolyticus*) 一种革兰氏染色阳性的细菌，是D族链球菌，归属于牛链球菌。解没食子酸链球菌可以引起腹膜炎、脑膜炎、心内膜炎、败血症、尿路感染、咽颊炎等等。解没食子酸链球菌对人类的健康造成危害。因此快速检测解没食子酸链球菌具有重要的意义。为此，本公司以探针法qPCR技术为基础开发了解没食子酸链球菌的检测试剂盒，它具有下列特点：

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，分析灵敏度高，可以达到100拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据解没食子酸链球菌DNA高度保守区设计，能检测解没食子酸链球菌解没食子酸亚种、解没食子酸链球菌巴氏亚种和解没食子酸链球菌马其顿亚种，不会跟其他生物的DNA发生交叉反应。
5. 可用于定性检测。
6. 本产品足够50次20 μL体系的探针法qPCR反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	60001	0.5 mL	0.5 mL
荧光PCR专用模板稀释液	60002	1 mL	1.5 mL
解没食子酸链球菌qPCR引物-探针干粉	60003	50次	0.5 mL
解没食子酸链球菌解没食子酸亚种qPCR阳性对照(1E4拷贝/μL)	64916-4	250 μL	0.5 mL
解没食子酸链球菌巴氏亚种qPCR阳性对照(1E4拷贝/μL)	64916-5	250 μL	0.5 mL
使用手册		1份	无

注意：引物-探针干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入220 μL的超纯水充分混匀后得到qPCR引物-探针混合液再使用，未用完的需要-20℃保存。

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为24个月。																																						
自备试剂	样品DNA，超纯水，核酸纯化试剂盒。																																						
使用方法	一、样品DNA的制备 1. 如果有N个样品，最好设置N+3个提取，多出的一个是解没食子酸链球菌解没食子酸亚种的PC（样品制备阳性对照），一个是解没食子酸链球菌巴氏亚种的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第一步和第二步所得第4号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次样本制备所要求的起始样本体积一样，以此分别作为两个PC。另外用水作为NC。水的总体积需要跟样本制备试剂盒所要求的样本体积一样。 2. 用自选方法纯化样品的DNA，本试剂盒跟市场上大多数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。 二、Probe qPCR反应（20 μL体系，在样品制备室进行） 3. 做定性分析并且只做1次重复，则标记N+3+3个PCR管，其中N+3个用于上步得到的N+3个样品，1个用于PCR阴性对照（用水做模板），1个用于解没食子酸链球菌解没食子酸亚种PCR阳性对照，1个用于解没食子酸链球菌巴氏亚种PCR阳性对照。 4. 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）： <table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th><th>样品管 N+3个</th><th>PCR 阴性对照</th><th>解没食子酸链 球菌解没食子 酸亚种PCR 阳性对照</th><th>解没食子酸链 球菌巴氏亚种 PCR 阳性对照</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×Probe qPCR MasterMix</td><td>各10 μL</td><td>10 μL</td><td>10 μL</td><td>10 μL</td></tr> <tr> <td>解没食子酸链球菌qPCR 引物-探针混合液</td><td>各4 μL</td><td>4 μL</td><td>4 μL</td><td>4 μL</td></tr> <tr> <td>N+3个待测DNA样本</td><td>各6 μL</td><td>不加</td><td>不加</td><td>不加</td></tr> <tr> <td>超纯水</td><td>不加</td><td>6 μL</td><td>不加</td><td>不加</td></tr> <tr> <td>解没食子酸链球菌解没 食子酸亚种qPCR 阳性对照(1E4拷贝/μL)</td><td>不加</td><td>不加</td><td>6 μL</td><td>不加</td></tr> <tr> <td>解没食子酸链球菌巴氏 亚种qPCR阳性对照 (1E4拷贝/μL)</td><td>不加</td><td>不加</td><td>不加</td><td>6 μL</td></tr> </tbody> </table>				成分	样品管 N+3个	PCR 阴性对照	解没食子酸链 球菌解没食子 酸亚种PCR 阳性对照	解没食子酸链 球菌巴氏亚种 PCR 阳性对照	2×Probe qPCR MasterMix	各10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	解没食子酸链球菌qPCR 引物-探针混合液	各4 μL	4 μL	4 μL	4 μL	N+3个待测DNA样本	各6 μL	不加	不加	不加	超纯水	不加	6 μL	不加	不加	解没食子酸链球菌解没 食子酸亚种qPCR 阳性对照(1E4拷贝/μL)	不加	不加	6 μL	不加	解没食子酸链球菌巴氏 亚种qPCR阳性对照 (1E4拷贝/μL)	不加	不加	不加	6 μL
成分	样品管 N+3个	PCR 阴性对照	解没食子酸链 球菌解没食子 酸亚种PCR 阳性对照	解没食子酸链 球菌巴氏亚种 PCR 阳性对照																																			
2×Probe qPCR MasterMix	各10 μL	10 μL	10 μL	10 μL																																			
解没食子酸链球菌qPCR 引物-探针混合液	各4 μL	4 μL	4 μL	4 μL																																			
N+3个待测DNA样本	各6 μL	不加	不加	不加																																			
超纯水	不加	6 μL	不加	不加																																			
解没食子酸链球菌解没 食子酸亚种qPCR 阳性对照(1E4拷贝/μL)	不加	不加	6 μL	不加																																			
解没食子酸链球菌巴氏 亚种qPCR阳性对照 (1E4拷贝/μL)	不加	不加	不加	6 μL																																			

5. 盖上盖子后上机，按下面参数进行qPCR:

过程	温度	时间
预变性	95℃	5 min.
PCR反应 (40个循环)	95℃	15 sec
	58℃	30 sec (采集FAM和Cy5通道的荧光信号, 淬灭基团为MGB)
	72℃	30 sec

三、数据处理

6. 如果样本制备阳性对照或PCR阳性对照(包括标曲样本)结果为阴性,则整个实验无效,不需要分析数据,需要重新样本制备,重新进行PCR扩增或跟厂家联系。如果样本制备阴性对照或PCR阴性对照结果为阳性,说明环境污染,则整个实验无效,不需要分析数据,需要跟厂家联系。
7. 如果阴性对照和阳性对照均正常,则实验有效,可以进入后续分析。
8. 本试剂盒用于定性检测时,只判断阳性或阴性,则阴性对照Ct必须没有读数,或者大于或等于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40。对待测样品,如果其FAM通道的Ct大于40则为解没食子酸链球菌解没食子酸亚种阴性,如果小于或等于40则为解没食子酸链球菌解没食子酸亚种阳性。如果其Cy5通道的Ct大于40则解没食子酸链球菌巴氏亚种阴性,如果小于或等于40则为解没食子酸链球菌巴氏亚种阳性。