

## 恙虫病东方体探针法荧光定量 PCR 试剂盒说明书

试剂盒简介 为了适应恙虫病东方体探针法荧光定量 PCR 试剂盒快速检测和疫病研究的需要，本公司参照 OIE 国际标准中规定的引物序列，经多次实验及系统优化，开发生产了本试剂盒。应用本试剂盒进行检测具有快速、灵敏、特异、准确、操作简单、应用广泛和高通量检测等特点及优点。

### 2、试剂盒组成：

试剂盒组成包括核酸提取试剂和核酸扩增试剂，具体组成参见表 1：s

表 1：试剂盒组成（50test/盒）

组成成分	体积
样品 DNA 提取液1	5ml×1 管
样品 DNA 提取液2	500μl×1 管
核酸扩增试剂： DEPC 水	5ml×1 管
BP PCR 反应液	750μl×1 管
<u>Taq</u> 酶 (5U/ul)	40μl×1 管
阴性对照	1ml×1 管
BP 阳性对照	1ml×1 管

### 样本处理及要求：

1. 血清：全血标本请于室温放置 2 小时或 4℃ 过夜后于 1000g 离心 20 分钟，取上清即可检测，或将标本放于 -20℃ 或 -80℃ 保存，但应避免反复冻融。
2. 血浆：可用 EDTA 或肝素作为抗凝剂，标本采集后 30 分钟内于 2 - 8° C 1000g 离心 20 分钟，或将标本放于 -20℃ 或 -80℃ 保存，但应避免反复冻融。
3. 组织匀浆：用预冷的 PBS (0.01M, pH=7.4) 冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS（一般按 1:9 的重量体积比，比如 1g 的组织样品对应 9mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。将匀浆液于 5000×g 离心 5~10 分钟，取上清检测。
4. 细胞培养物上清或其它生物标本：1000g 离心 20 分钟，取上清即可检测，或将标本放于 -20℃ 或 -80℃ 保存，但应避免反复冻融。

### 试剂盒组成及试剂配制：

1. 酶联板 (Assay plate )：一块 (96 孔)。
2. 标准品 (Standard)：2 瓶 (冻干品)。
3. 样品稀释液 (Sample Diluent)：1×20ml/瓶
4. 生物素标记抗体稀释液 (Biotin-antibody Diluent)：1×10ml/瓶。
5. 辣根过氧化物酶标记亲和素稀释液 (HRP-avidin Diluent)：1×10ml/瓶。
6. 生物素标记抗体 (Biotin-antibody)：1×120 μ l/瓶 (1: 100)
7. 辣根过氧化物酶标记亲和素 (HRP-avidin)：1×120 μ l/瓶 (1: 100)

8. 底物溶液 (TMB Substrate) : 1×10ml/瓶。
9. 浓洗涤液 (Wash Buffer) : 1×20ml/瓶, 使用时每瓶用蒸馏水稀释 25 倍。
10. 终止液 (Stop Solution) : 1×10ml/瓶 (2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 。

**操作流程:**

1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条, 剩余板条用自封袋密封放回 4℃。
2. 设置标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL;
3. 样本孔中加入待测样本 50 μL; 空白孔不加。
4. 除空白孔外, 标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的检测抗体 100 μL, 用封板膜封住反应孔, 37℃水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液 (350 μL), 静置 1min, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干, 如此重复洗板 5 次 (也可用洗板机洗板) 。
6. 每孔加入底物 A、B 各 50 μL, 37℃避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 μL, 15min 内, 在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

样本: 血清 血浆 组织匀浆等液体样本

标记物: 血清 血浆 组织匀浆等

应用: 仅用科研实验检测定量, 定性检

检测方法: 夹心法

技术要求: 全程按说明书步骤检测, 操作规范, 专业, 仪器设备齐全。

规格: 48t/96t

性状: 液体

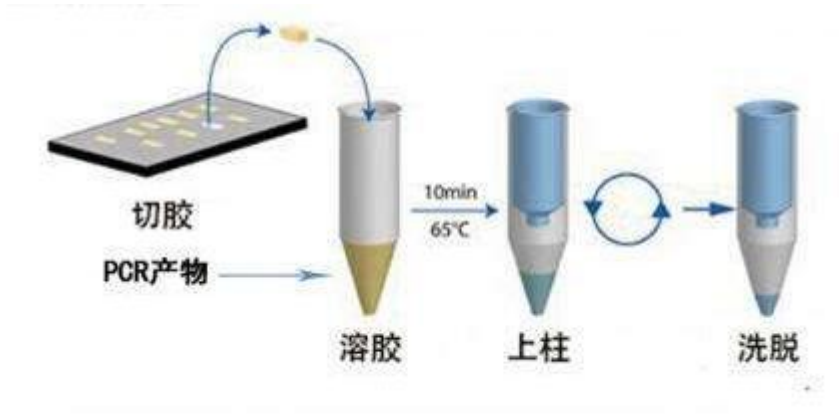
运输方式: 快递发货

有效期: 6 个月品

特点: 灵敏性高, 一一性, 吸附均匀, 吸附性好, 回收利用率高, 是一款可以让您放心选购的产品。

使用范围: 此产品供科研实验使用, 不得用于一一。

用途: 用于测定人血清、血浆、组织及相关液体样本中的含量或活性。



注：本公司提供试剂盒免费代测服务。需要其他检测试剂盒请咨询销售人员。