

非洲猪瘟 qPCR 检测试剂盒 (UDG plus)

产品简介

非洲猪瘟 qPCR 检测试剂盒是一款采用公司新一代抗体法热启动 Taq 酶的荧光定量预混液。本产品包含了非洲猪瘟全预混反应液，阴性对照 (RNase-free H₂O) 以及阳性对照、内标。其中全预混反应液包含反应缓冲液、酶 mix 和引物探针，采用 dUTP 代替 dTTP，并添加了有效抑制非特异性 PCR 扩增的因子，大大减少了非特异性 PCR 扩增和污染，能够保证引物效率。本产品含有 UDG 酶，可有效防止气溶胶污染的风险。同时利用仪器对 PCR 过程中相应通道的信号强度进行实时监测和输出，实现检测结果的定性分析。

产品信息

货号	11869ES25/11869ES60/11869ES80/11869ES92
规格	25 T/100 T/1,000 T/10,000 T

组分信息

组分编号	组分名称	11869ES25 (25 T)	11869ES60 (100 T)	11869ES80 (1,000 T)	11869ES92 (10,000T)
11869-A	全预混反应液	500 μ L	2 \times 1 mL	20 mL	200 mL
11869-B	阴性对照	125 μ L	500 μ L	5 mL	50 mL
11869-C	阳性对照	125 μ L	500 μ L	5 mL	10 mL
11869-D	内标	25 μ L	100 μ L	1 mL	10 mL

*用于全血、血清、淋巴结、脾脏、肾脏、扁桃体、肺、肌肉、环境样品等样品中非洲猪瘟病毒核酸的检测。

储存条件

-25~-15°C保存，有效期 1 年。11869-A 避光保存。

使用说明

1. 操作说明

1) 操作步骤

将 20 μ L PCR 反应混合液加入每个 0.2 mL PCR 扩增管；将 5 μ L DNA 模板加入 PCR 扩增管中。每次进行 PCR 扩增时均应设立阳性、阴性对照。加入模板后，密封反应管，瞬时离心。将所有 PCR 扩增管放在荧光 PCR 仪上进行检测，FAM 通道采集荧光信号，Cy5 通道采集内标信号。

2) 反应体系

组分	体积 (μ L)	终浓度
11869-A	20	1 \times
模板	5	-
ddH ₂ O	up to 25	-

*在环境样本检测时，推荐在样本中加入内标进行提取验证，通常是 100 μ L 样本加入 1 μ L 进行提取。

2. 参考扩增程序

1) 常规扩增程序

步骤	温度	时间	循环数
污染消化	37°C	5 min	1
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	15 sec	45
退火/延伸	60°C	30 sec	

2) 快速扩增程序

步骤	温度	升/降温速率	时间	循环数
污染消化	37°C	3.19°C/S	2 min	1
预变性	95°C	3.19°C/S	2 min	1
变性	95°C	3.19°C/S	5 sec	45
退火/延伸	60°C	2.45°C/S	10 sec	

*扩增反应：扩增反应温度根据设计的引物 Tm 值进行调整；荧光信号采集：不同的 qPCR 仪器所需的荧光信号采集时间不同，请根据最短时间限制进行设置。

3. 适用机型

Applied Biosystems: 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne™, StepOne Plus™, 7500, 7500 Fast, ViiA™ 7, QuantStudio™ 3 and 5, QuantStudio™ 6,7,12k Flex;

Bio-Rad: CFX96, CFX384, iCycler iQ, iQ5, MyiQ, MiniOpticon, Opticon, Opticon 2, Chromo4;

Eppendorf: Mastercycler ep realplex, realplex 2 s;

Qiagen: Corbett Rotor-Gene Q, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000;

Roche Applied Science: LightCycler 480, LightCycler 2.0; Lightcycler 96;

Stratagene: MX3000P™, MX3005P™, MX4000P™;

Thermo Scientific: PikoReal Cyler; **Cepheid:** SmartCycler; **illumina:** Eco qPCR.

结果判定

1. 试剂盒有效性判定

- 1) 11869-C 阳性对照，FAM 通道 Ct 值应 $Ct \leq 38$ 且出现特异性扩增曲线；
- 2) 11869-B 阴性对照，FAM、Cy5 通道应无 Ct 值或 $Ct \geq 38$ 且无特异性扩增曲线。

2. 检测结果的判定

根据下表对检测结果进行判定

	FAM	Cy5	结果判定
1	$Ct \geq 40$ 或 UNDET	$Ct \leq 38$	阴性
2	$Ct \leq 38$	$Ct \leq 38$	阳性
3	$38 < Ct \leq 40$	$Ct \leq 38$	需重新测试，Ct 值仍在此区间且曲线呈标准“S”型，则判断为阳性，否则判断为阴性

注意事项

1. 本产品仅作科研用途。
2. 试剂盒不同组分间不得交叉，防止污染。
3. PCR 产物均应合理处理，以免造成污染。
4. 严格按照使用说明书进行操作。
5. 按要求贮藏，冷链运输；并在有效期内使用。