

## 伯氏疏螺旋体探针法 qPCR 试剂盒

**Borrelia burgdorferi Probe qPCR Kit**

CAT#: BN61393

低温运输, -20℃保存

## 产品及特点

伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*) 是莱姆病的病原体, 其传播媒介主要是某些硬蜱, 主要储存宿主是野鼠类和驯养哺乳动物。莱姆病多发生在户外工作者或旅行者, 表现为慢性游走性红斑, 并可累及心脏、神经和关节等多系统。常可复发, 晚期伴随有器官的严重功能损伤。因此快速灵敏诊断伯氏疏螺旋体具有重要意义。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伯氏疏螺旋体的试剂盒, 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, 引物是根据伯氏疏螺旋体 DNA 高度保守区设计, 不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应, 也不会跟另外两种致病型疏螺旋体 (伽氏疏螺旋体和阿氏疏螺旋体) 发生交叉反应。
5. 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。
6. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

| 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   |
| 伯氏疏螺旋体 qPCR 引物-探针混合液            | 61393-4 | 150 μL |
| 伯氏疏螺旋体 qPCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL) | 61393-5 | 50 μL  |
| 使用手册                            |         | 1 份    |

本产品仅用于科研

TEL: 010-62960866    www.biorigin.Ltd

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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><b>一、稀释标准曲线样品</b>（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"> <li>1. 标记 6 个离心管，分别为 6，5，4，3，2，1。</li> <li>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）。</li> <li>3. 在 6 号管中加入 5 μL 1×10E7 拷贝/μL 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E6 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</li> <li>4. 换枪头，在 5 号管中加入 5 μL 1×10E6 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E5 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</li> <li>5. 换枪头，在 4 号管中加入 5 μL 1×10E5 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E4 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</li> <li>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。</li> </ol> <p><b>二、样品 DNA 的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol> <p><b>三、Probe qPCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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</li> </ol> |

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<br>N+2 个 | PCR 阴性对<br>照 | 标准曲线样品管<br>(1-6 管)                       |
|-----------------------------|--------------|--------------|------------------------------------------|
| 2×Probe qPCR MagicMix       | 各 10 μL      | 10 μL        | 各 10 μL                                  |
| 伯氏疏螺旋体 qPCR<br>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<br>(1-6 号) | 不加           | 不加           | 各 7 μL (2 号样到<br>2 号管, 3 号样到<br>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<br>(40 个循环) | 95℃ | 10 sec                                 |
|                    | 60℃ | 60 sec (采集 FAM 通道的荧光信号，设置 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，则阴性对照必须无 Ct。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，否则实验无效。如果实验有效，则分析待测样品，如果无 Ct 则为阴性，如果 Ct 小于 35 则为阳性，如果在 35-40 之间，则重复一次。重复实验的 Ct 值如果小于 40，则为阳性，如果无 Ct 则判为阴性。

#### 关联产品

伯氏疏螺旋体荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒