天净沙系列

CAT#:15-29420-caf1-4

低温运输，-20℃保存

天净沙

鼠疫耶尔森菌 *caf1*/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因四重探针法 PCR 试剂盒

Yersinia pestis *caf1*/*chro392*/*ipc2*/*pla* Gene Quadruple Probe PCR Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是鼠疫耶尔森菌 *caf1*/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因四重探针法 PCR 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/反应。
3. 提供阳性对照，便于排除假阴性结果。
4. 特异性高，引物和探针分别根据鼠疫耶尔森菌 *caf1*/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因 DNA 高度保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。
5. 本产品只用于定性检测，不推荐用于定量检测
6. 鼠疫耶尔森菌 *caf1*/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因分别用 FAM、HEX、FAM 和 HEX 四个探针检测。
7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 PCR 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用十孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	981201	500 μL	0.5 mL 红盖管
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5mL 绿盖管
caf1/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因四重 PCR 引物-探针干粉	Yp15-29420-caf1-4	50 次	0.5mL 棕色管
caf1 阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-29420-caf1	50 μL	0.5mL 棕色管
chro392 阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-29420-chro392	50 μL	0.5mL 棕色管
ipc2 阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-29420-ipc2	50 μL	0.5mL 黄盖管
pla 阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-29420-pla	50 μL	0.5mL 黄盖管
使用手册	15-29420-caf1-4sc	1 份	无

注意：在使用前需要短暂离心引物-探针干粉管，然后在离心管中加入 165 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

自备物品

样品 DNA。

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 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用自备的、确定是阳性的样本作为样品制备阳性对

照，可以用自备的、确定是阴性的样本作为样品制备阴性对照，可以用水替代。

2. 用自选方法纯化样品的 DNA（含内参），本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。

二、Probe PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）

3. 如果有 N+3 个核酸提取，则设置 N+6 个 PCR 反应，多出的 3 个 1 个用于 PCR NC，另外 2 个分别用于 2 个待检测基因的 PCR PC。在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复）：

成分	样品管 N+2 个	PCR NC	*caf1* PC	*chro392* PC
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
caf1/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因四重 PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA	各 7 μL	不加	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加	不加
caf1 基因阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	不加	不加	7 μL	不加
chro392 基因阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	不加	不加	不加	7 μL

成分	样品管 N+2 个	PCR NC	*ipc2* PC	*pla* PC
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
caf1/*chro392*/*ipc2*/*pla* 基因四重 PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA	各 7 μL	不加	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加	不加
ipc2 基因阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	不加	不加	7 μL	不加
pla 基因阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	不加	不加	不加	7 μL

4. 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）	94℃	30 sec
	55℃	15 sec
	72℃	60 sec（采集 FAM、HEX 通道的荧光信号，淬灭基团均为 TAMRA）

三、数据处理

5. 如果 PPC 和 APC 结果均为阴性，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要重做扩增或制备或跟厂家联系。如果 PNC 或 ANC 结果为阳性，说明环境污染，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系，购买新的引物和探针。
6. 如果阴性对照和阳性对照正常，则实验有效，可以进入后续分析。
7. 对定性检测，只判断阳性或阴性。

***caf1*/*chro392* 基因结果判定**		
FAM	Ct 值小于或等于 40	*caf1* 基因阳性
	Ct 值大于 40	*caf1* 基因阴性
HEX	Ct 值小于或等于 40	*chro392* 基因阳性
	Ct 值大于 40	*chro392* 基因阴性

***ipc2*/*pla* 基因结果判定**		
FAM	Ct 值小于或等于 38	*ipc2* 基因阳性
	Ct 值大于 38	*ipc2* 基因阴性
HEX	Ct 值小于或等于 38	*pla* 基因阳性
	Ct 值大于 38	*pla* 基因阴性

关联产品	鼠疫耶尔森菌 lcrv 基因探针法 qPCR 试剂盒