

# 大鼠线粒体DNA探针法荧光定量PCR试剂盒

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

咨询QQ : 2881498726

订购热线 : 021 - 54720761

咨询电话 : 13166274223(微信同号)

## 产品及特点:

本试剂盒可用于检测大鼠线粒体 DNA。本产品是根据探针法荧光定量 PCR 原理开发的大鼠线粒体 DNA 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. 引物等组分经过优化，灵敏度高。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据大鼠线粒体 DNADNA 序列高度保守区设计，不会跟其他样本的 DNA 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 $\mu$ L 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	规格
2 × Probe qPCR Mix	550 $\mu$ L
DEPC-H <sub>2</sub> O	1mL
荧光模板稀释液	1mL
大鼠线粒体 DNA qPCR引物-探针混合液	260 $\mu$ L
大鼠线粒体 DNA qPCR 阳性对照(1×10 <sup>8</sup> 拷贝/ $\mu$ L)	50 $\mu$ L

## 运输及保存:

低温运输，-20°C保存，保存期限为 12 个月。阳性对照需要单独放置，不要污染其他试剂。

## **使用方法:**

### **一、DNA 提取(样本制备区)**

1. (选做) 如果有 N 个样品待提取, 最好设置 N+2 个提取, 多出的是 PC (样品制备阳性对照) 和 NC (样品制备阴性对照)。可以取阳性对照的 1000 倍稀释液 10 $\mu$ L 再加上一定量的水, 使总体积与待提取样品的规定体积一致, 以此作为 PC。另外用水作为 NC。

2. 用自选方法提取纯化样品 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数核酸提取试剂盒兼容。

### **二、稀释标准曲线样品(样本制备区)**

(由于阳性对照浓度高, 因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行, 避免污染样品或本试剂盒的其他成分)。

1. 标记 6 个离心管, 分别为 7, 6, 5, 4, 3, 2。

2. 用带芯枪头分别加入 45  $\mu$ L 荧光模板稀释液, (最好用带芯枪头, 下同)。

3. 在 7 号管中加入 5  $\mu$ L 1 $\times$ 10E8 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得 1 $\times$ 10E7 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

4. 换枪头, 在 6 号管中加入 5  $\mu$ L 1 $\times$ 10E7 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 1 $\times$ 10E6 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

5. 换枪头, 在 5 号管中加入 5  $\mu$ L 1 $\times$ 10E6 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 1 $\times$ 10E5 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

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。

若无需制作标准曲线, 将阳性对照稀释到 1 $\times$ 10E5 拷贝/ $\mu$ L 即可。

### **三、试剂配制(试剂准备区)**

准备足量的 qPCR 管 (样品管、阴性对照管、阳性对照管), 向各 qPCR 管中分别加入下列成分。

成份	N个待检样品管	qPCR 阴性对照管	qPCR阳性对照
2 × Probe qPCR Mix	各10μL	10μL	10μL
大鼠线粒体DNAqPCR物-探针混合液	各5μL	5μL	5μL

转移至模板添加区。

#### 四、添加模板(模板添加区)

五、向 qPCR 管中分别加入 5 uL 模板，顺序为阴性对照 (DEPC-H2O) 、待测样品模板、大鼠线粒体 DNA qPCR 阳性对照，离心 30 秒，立即进行扩增反应。

#### 五、扩增反应(扩增及产物分析区)

将 qPCR 管放置在 qPCR 扩增仪器样品槽相应位置，进行扩增，扩增程序如下：

过程	温度	时间
预变性	95°C	3 min
PCR 反应 45 个循环	95°C	15 sec
	60°C	20sec
信号通道	FAM 通道采集荧光信号	

#### 六、结果分析

1. 如果制作标准曲线，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，推算出其浓度。

2. 如果未制作标准曲线，按照如下标准判定结果：

阳性对照 ( $1 \times 10^5$  拷贝/ $\mu$ L) 结果：Ct 值  $< 30$ ，有明显指数增长，呈典型的 S 型曲

线。

阴性对照结果：Ct 值 $>40$  或无 Ct 值，无明显指数增长期和平台期。

样本检测结果：Ct 值 $<38$ ，有明显指数增长，表明样本中检测出大鼠线粒体 DNA，

结果为阳性；Ct 值 $>40$  或无 Ct 值，表明样本中未检测出大鼠线粒体 DNA，结果为阴

性；Ct 值在 38-40 范围，应对样本进行复检，如重复实验结果 Ct 值仍在 38-40 范围，有

明显指数增长，则判定为阳性，否则为阴性。

上海晶抗生物 [www.jkbio.cn](http://www.jkbio.cn)

一站式科研采购服务

**所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**