|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **天净沙系列** | **CAT#:15-42420**  **低温运输，-20℃保存** | | tiandz logo | |
| **蓝氏贾第鞭毛虫探针法荧光定量PCR试剂盒**  ***Giardia lamblia* Probe PCR Kit** | | | |
| **使用手册V1.0** | | | |
| **北京天恩泽基因科技有限公司**  **北京市海淀区上地信息路26号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦506**  **网址：[www.tiandz.com](http://www.tiandz.com)；电话：400-6765278；电邮：order@tiandz.com** | | | | |
| **产品及特点** | | 蓝氏贾第鞭毛虫（*Giardia lamblia*）主要寄生人体小肠、胆囊主要在[十二指肠](https://baike.baidu.com/item/%E5%8D%81%E4%BA%8C%E6%8C%87%E8%82%A0/727923" \t "_blank)，可引起腹痛、腹泻和吸收不良等症状，导致[贾第虫病](https://baike.baidu.com/item/%E8%B4%BE%E7%AC%AC%E8%99%AB%E7%97%85/8469958" \t "_blank)，为人体肠道感染的常见[寄生虫](https://baike.baidu.com/item/%E5%AF%84%E7%94%9F%E8%99%AB/3819" \t "_blank)之一。蓝氏贾第鞭毛虫分布于世界各地。由于旅游事业的发展，在旅游者中发病率较高，故又称旅游者腹泻，已引起各国的重视。蓝氏贾第鞭毛虫感染的患者，以无症状带虫者居多，潜伏期多在两周左右，甚至可达数月不等，临床症状视病变部位而异，其表面多种多样，症状轻重也有不同，因此快速检测具有重要意义。荧光定量PCR是检测传染性疾病的主流技术，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蓝氏贾第鞭毛虫的试剂盒，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，灵敏性高。 3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。 4. 特异性高，引物是根据人蓝氏贾第鞭毛虫高度保守区设计，不会跟其他微生物的DNA发生交叉反应。 5. 本产品足够50次20μL体系的探针法荧光定量PCR反应。 6. 本产品既可用于定性，也可用于定量。 7. 本产品只能用于科研。 | |
| **规格及成分** | | |  |  |  | | --- | --- | --- | | 成分 | 编号 | 十孔盒包装 | | 2×Probe qPCR MagicMix | 190303 | 0.5 mL（本色盖） | | 荧光PCR专用模板稀释液 | 180701 | 1 mL（黄盖） | | 蓝氏贾第鞭毛虫探针法qPCR引物混合液 | 15-42420yw | 100 μL（白盖） | | 蓝氏贾第鞭毛虫qPCR探针  0.5μM | 15-42420pro | 50 μL（棕色管） | | 蓝氏贾第鞭毛虫探针法qPCR阳性对照(1×10E8拷贝/μL) | 15-42420pc | 50 μL（黄盖） | | 天净沙核酸释放剂试用装 | 61202 | 20次（1mL，绿色） | | 使用手册 | 15-42420sc | 1份 | | |
| **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** | | **一、稀释标准曲线样品**（以10E2-10E7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。   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 μL荧光PCR专用模板稀释液，最好用带芯枪头，下同）。 3. 在7号管中加入5 μL 1×10E8拷贝/μL 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡1分钟，得1×10E7拷贝/μL的标准曲线样品。放冰上待用。 4. 换枪头，在6号管中加入5 μL 1×10E7拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，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。 5. 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。 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。   **二、样品DNA的制备**   1. 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10μL阳性对照的10000倍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。 2. 用自选方法纯化样品的DNA，本试剂盒跟市场上大多数鞭毛虫DNA提取试剂盒兼容。本试剂盒免费赠送20次免DNA提取的天净沙核酸释放剂，本产品的裂解液可以直接作为PCR模板，省略了DNA提取步骤。其使用手册可从本公司网站[www.tiandz.com通过搜索产品名称天净沙核酸释放剂或产品编号61202](http://www.tiandz.com通过搜索产品名称天净沙核酸释放剂或产品编号61202)下载。   **三、Probe qPCR反应（20μL体系，在样品制备室进行）**   1. 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，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（用第4号阳性对照稀释液，浓度为10000拷贝/μL）。下面只描述定量分析的步骤，定性分析只是把6个标曲反应缩减成1个，其余不变。 2. 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**  **N+2个** | **PCR阴性对照管** | **标准曲线**  **样品管（2-7管）** | | 2×Probe qPCR MagicMix | 10 μL | 10 μL | 各10 μL | | 蓝氏贾第鞭毛虫探针法qPCR探针 | 2 μL | 2 μL | 各2 μL | | 蓝氏贾第鞭毛虫探针法qPCR引物混合液 | 2 μL | 2 μL | 各2 μL | | 待测样品DNA模板 | 6 μL | 不加 | 不加 | | 第7步所得标准曲线样品稀释液（2-7号） | 不加 | 不加 | 各6μL（2号样到2号管，3号样到3号管…） |  1. 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  （40个循环） | 95℃ | 15 sec | | 60℃ | 60 sec（采集FAM通道的荧光信号） |   **五、数据处理**   1. 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。 2. 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Ct必须大于或等于40。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30。对待测样品，如果其Ct大于或等于40则为阴性，如果小于或等于35则为阳性。如果在35-40之间，则重复一次。重复实验的Ct值如果大于或等于40则为阴性，如果小于40，则为阳性。 | |
| **关联产品** | | 蓝氏贾第鞭毛虫可视化LAMP检测试剂盒 | |

20190628dx