

## 牛附红细胞体（牛嗜血支原体）PCR试剂盒说明书

1、试剂盒简介为了适应牛附红细胞体（牛嗜血支原体）PCR试剂盒快速检测和疫病研究的需要，本公司参照 OIE 国际标准中规定的引物序列，经多次实验及系统优化，开发生产了本试剂盒。应用本试剂盒进行检测具有快速、灵敏、特异、准确、安全操作简单、应用广泛和高通量检测等特点及优点。2、试剂盒组成：

试剂盒组成包括核酸提取试剂和核酸扩增试剂，具体组成参见表 1：s

表 1：试剂盒组成  
(50test/盒)

组成成分	体积
样品DNA 提取液1	5ml×1 管
样品DNA 提取液2	500μl×1 管
核酸扩增试剂： DEPC 水	5ml×1 管
BP PCR 反应液	750μl×1 管
Taq 酶(5U/ul)	40μl×1 管
阴性对照	1ml×1 管
BP 阳性对照	1ml×1 管

### 操作流程：

1. 从室温平衡20min后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回4℃。
2. 设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品50 μL；
3. 样本孔中加入待测样本50 μL；空白孔不加。
4. 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体100 μL，用封板膜封住反应孔，37℃水浴锅或恒温箱温育60min。
5. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（350 μL），静置1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板5次（也可用洗板机洗板）。
6. 每孔加入底物A、B各50 μL，37℃避光孵育15min。
7. 每孔加入终止液50 μL，15min内，在450nm波长处测定各孔的OD值。

**样本：**血清 血浆 组织匀浆等液体样本

**标记物：**血清 血浆 组织匀浆等

**应用：**仅用科研实验检测定量，定性检

**检测方法：**夹心法

**技术要求：**全程按说明书步骤检测，操作规范，专业，仪器设备齐全。

**规格：**48t/96t

**性状：**液体

**运输方式：**快递发货

**有效期：**6个月品

**特点：**灵敏性高，一一性，吸附均匀，吸附性好，回收利用率高，是一款可以让您放心选购的产品。

**使用范围：**此产品供科研实验使用，不得用于一一。

**用途：**用于测定人血清、血浆、组织及相关液体样本中的含量或活性。

**注意事项：**

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡**15-30**分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
- 2.各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在**5**分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
- 3.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本OD值大于标准品孔di一孔的OD值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（**n**倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（**×n×5**）。
- 4.封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
- 5.底物请避光保存。
- 6.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。
- 7.所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
- 8.本试剂不同批号组分不得混用。
- 9.不能使用过期产品。
10. 如与英文说明书有异，以英文说明书为准。

每个样品测试反应体系配制见下表 **2**。

表 2 每个样品测试反应体系配制表

试剂	PCR 反应液	Taq 酶	合计
用量	14.5 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	15 $\mu$ L

**样本处理及要求:**

1. 血清: 全血标本请于室温放置2小时或4℃过夜后于1000g离心20分钟, 取上清即可检测, 或将标本放于-20℃或-80℃保存, 但应避免反复冻融。
2. 血浆: 可用EDTA或肝素作为抗凝剂, 标本采集后30分钟内于2 - 8° C 1000g离心20分钟, 或将标本放于-20℃或-80℃保存, 但应避免反复冻融。
3. 组织匀浆: 用预冷的PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织, 去除残留血液(匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果), 称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的PBS(一般按1:9的重量体积比, 比如1g的组织样品对应9mL的PBS, 具体体积可根据实验需要适当调整, 并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂)加入玻璃匀浆器中, 于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞, 可以对匀浆液进行超声破碎, 或反复冻融。将匀浆液于5000×g离心5~10分钟, 取上清检测。
4. 细胞培养物上清或其它生物标本: 1000g离心20分钟, 取上清即可检测, 或将标本放于-20℃或-80℃保存, 但应避免反复冻融。

注: 本公司提供试剂盒免费代测服务。需要其他检测试剂盒请咨询销售人员。

**试剂盒组成及试剂配制:**

1. 酶联板 (Assay plate ): 一块 (96孔)。
2. 标准品 (Standard): 2瓶 (冻干品)。
3. 样品稀释液 (Sample Diluent): 1×20ml/瓶
4. 生物素标记抗体稀释液 (Biotin-antibody Diluent): 1×10ml/瓶。
5. 辣根过氧化物酶标记亲和素稀释液 (HRP-avidin Diluent): 1×10ml/瓶。
6. 生物素标记抗体 (Biotin-antibody): 1×120  $\mu$ l/瓶 (1: 100)
7. 辣根过氧化物酶标记亲和素 (HRP-avidin): 1×120  $\mu$ l/瓶 (1: 100)
8. 底物溶液 (TMB Substrate): 1×10ml/瓶。
9. 浓洗涤液 (Wash Buffer): 1×20ml/瓶, 使用时每瓶用蒸馏水稀释25倍。
10. 终止液 (Stop Solution): 1×10ml/瓶 (2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。