

乳酸杆菌属通用探针法荧光定量 PCR 试剂特点及特异性决定因素

乳酸杆菌属通用探针法荧光定量 PCR 试剂特点：

高特异性：与其他病毒无交叉反应，无非特异性扩增；

高灵敏度：检测灵敏度可达 10~100；

操作简便：该系列所有试剂均采用相同的体系和条件，可同时进行多个检测；

高通量：多种双重 PCR 检测以及三重 PCR 检测试剂盒。【详细说明】

注意事项：1. 基础程序；2. 扩增温度和延伸温度；3. 反应时间；4. 循环次数；5. PCR 反应液的配制；6. PCR 技术的基本原理；7. PCR 的反应动力学；8. PCR 扩增产物；9. PCR 反应体系与反应条件。

特点优势：

1. 特异性：所有产品使用的引物均经过详尽的生物信息学分析，经过 TIANDZ 及自建庞大数据库的比对，确保所用的每一条引物均为种属或血清型特异的基因序列区段，可实现对细菌种属及血清型的特异检测，特异性均达到 100%。

2. 重现性：该系列所有产品均经过大量实验菌株的验证，重现性为 100%。

3. 灵敏性：该系列产品可实现对检测菌的高灵敏检测，当样品中细菌的浓度达到 10³cfu/ml 时，可实现对其的直接检测，无需繁琐的增殖过程。

4. 实用性：检测范围广，涵盖了对人体危害较为严重的 17 种呼吸道及肠道致病菌，可实现对临床样品及其他环境取样的快速检测，整个检测过程为 3-4 个小时。

5. 优势 1：序列资源丰富，除 TIANDZ 公布的序列外，公司还进行了大量菌株的序列破译，从理论上保证所选引物具有良好的保守性和特异性。

6. 优势 2：该系列试剂盒均经过大量的保守性及特异性实验验证，凭借公司拥有的丰富的菌种资源，每一种检测试剂盒均经过了 20 余种标准菌株和临床菌株的保守性验证及 40 余种近缘标准菌株和临床菌株的特异性验证，确保在使用过程中不会出现任何的假阳性及假阴性报告结果。

PCR 反应的特异性决定因素为：

①引物与模板 DNA 特异正确的结合；

②碱基配对原则；

③Taq DNA 聚合酶合成反应的忠实性；

④靶基因的特异性与保守性。

其中引物与模板的正确结合是关键。引物与模板的结合及引物链的延伸是遵循碱基配对原则的。聚合酶合成反应的忠实性及 Taq DNA 聚合酶耐高温性，使反应中模板与引物的结合(复性)可以在较高的温度下进行，结合的特异性大大增加，被扩增的靶基因片段也就能保持很高的正确度。再通过选择特异性和保守性高的靶基因区，其特异性程度就更高。

(2) 灵敏度高

PCR 产物的生成量是以指数方式增加的，能将皮克(pg=10⁻¹²g)量级的起始待测模板扩增到微克(ug=10⁻⁶g)水平。能从 100 万个细胞中检出一个靶细胞；在病毒的检测中，PCR 的灵敏度可达 3 个 RFU(空斑形成单位)；在细菌学中 zui 小检出率为 3 个细菌。

(3) 简便、快速

PCR 反应用耐高温的 Taq DNA 聚合酶，一次性地将反应液加好后，即在 DNA 扩增液和水浴锅上进行变性-退火-延伸反应，一般在 2~4 小时完成扩增反应。扩增产物一般用电泳分析，不一定要用同位素，无放射性污染、易推广。

(4) 对标本的纯度要求低

不需要分离病毒或细菌及培养细胞，DNA 粗制品及总 RNA 均可作为扩增模板。可直接用临床标本如血液、体腔液、洗嗽液、毛发、细胞、活 PCR 技术概论。

