

## 放线菌属通用探针法荧光定量PCR试剂盒说明书

试剂盒简介 为了适应放线菌属通用探针法荧光定量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、操作简单、应用广泛和高通量检测等特点及优点。

### 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 μl/瓶 (1: 100)
7. 辣根过氧化物酶标记亲和素 (HRP-avidin)：1×120 μl/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>)。

### 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。

### 样本采集、存放及运输：

- 1、样本采集：各类型样本按照常规方法采集；
- 2、存放：样本在2~8℃条件下保存应不超过72h，-70℃以下可长期保存，但应避免反复冻融 (zui多冻融3次)；
- 3、运输：采用泡沫箱加冰密封进行运输。

### 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。