

CAT#: GZ15141



小鼠线粒体 DNA 探针法荧光定量 PCR 试剂盒

Mouse mtDNA Probe qPCR Kit

使用手册 V3.1

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本试剂盒可用于检测小鼠线粒体 DNA。线粒体是真核生物产生能量的重要细胞器，它具有自身的基因组，线粒体 DNA 和细胞核 DNA 共同决定真核生物的表现型，因此研究线粒体 DNA 具有重要的意义。本产品是根据探针法荧光定量 PCR 原理开发的小鼠线粒体 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，引物是根据小鼠线粒体 DNA 序列高度保守区设计，不会跟其他生物样本的 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 μ L 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。

成分规格

产品组成	编号	规格
2 $\times$ Probe qPCR Mix	GZ020701	550 μ L
DEPC-H ₂ O	GZ070401	1 mL
荧光模板稀释液	GZ070407	1 mL
小鼠线粒体 DNA qPCR 引物-探针混合液	GZ15141yp	160 μ L
小鼠线粒体 DNA qPCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 拷贝/ μ L)	GZ15141pc	50 μ L

保存条件

低温运输，-20 $^{\circ}$ C 保存，保存期限为一年。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 μ 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 μ 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 μ L 1 $\times$ 10E8 拷贝/ μ L 的阳性对照(试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得 1 $\times$ 10E7 拷贝/ μ 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 μ L 1 $\times$ 10E7 拷贝/ μ 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/ μ 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 μ L 1 $\times$ 10E6 拷贝/ μ 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/ μ 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/ μ 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。

成分	N 个待检样品管	qPCR 阴性对照	qPCR 阳性对照
2 $\times$ Probe qPCR Mix	各 10 μ L	10 μ L	10 μ L
小鼠线粒体 DNA qPCR 引物-探针混合液	各 3 μ L	3 μ L	3 μ L

转移至模板添加区。

四、添加模板(模板添加区)

向 qPCR 管中分别加入 7 μ L 模板，顺序为阴性对照（DEPC-H₂O）、待测样品模板、小鼠线粒体 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℃	10 min
qPCR 反应 (45 个循环)	95℃	15 sec
	60℃	60 sec
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（ 1×10^5 拷贝/ μ 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，表明样本中检测出小鼠线粒体 DNA，结果为阳性；Ct 值 > 40 或无 Ct 值，表明样本中未检测出小鼠线粒体 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。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ020701-1	2 $\times$ Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2 $\times$ SYBR qPCR Mix



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯