Ningbo Mingzhou Biotechnology Co., Ltd.
Business Inquiry:+86-0574-87157013
Email:mingzhoubio@163.com

Enteroaggregative Escherichia coli Real-time Fluorescent Quantitative PCR Detection Kit

一、产品名称

中文名称：肠集聚性黏附性大肠埃希菌实时荧光定量检测试剂盒

货号：

二、产品内容

货号	产品成分	规格	储存条件
	2× Probe qPCR Mix	1 mL	-20℃
	EAEC Primer & Probe Mix	300 μL	
	EAEC Quantitative Standard	100 μL	
	No Template Control (NTC)	15mL	

三、储存条件

本产品收到后置于 -20℃ 避光保存，避免反复冻融；建议按单次用量分装。未开封试剂在规定条件下有效期为 12 个月。定量标准品解冻后应轻柔混匀并短暂离心。具体有效期以产品标签为准。

四、产品介绍

本试剂盒采用 TaqMan 探针法实时荧光定量 PCR，用于定量检测样本中的肠集聚性黏附性大肠埃希菌 (Enteroaggregative Escherichia coli，EAEC) DNA。试剂盒包含 EAEC 特异性引物/探针、Robustart Premix OT plus- UNG (Probe qPCR)、EAEC 定量标准品及无模板对照。通过标准品建立标准曲线，并依据样本 Ct 值计算相应拷贝数。

五、样本要求

适用于粪便、肠道内容物、培养物或其他科研样本提取的总 DNA。建议使用适合复杂样本的 DNA 提取方法，并设置提取空白对照。DNA 应无明显 PCR 抑制物；浓度过高时可用无核酸酶水稀释后检测。不同样本类型之间不宜直接比较未经归一化的结果。

六、使用前注意事项

1.实验应划分试剂准备区、样本处理区和扩增分析区，并使用带滤芯枪头，防止气溶胶污染。

2.标准品为高拷贝核酸材料，应最后开盖、单独加样；如发生泄漏，应立即进行核酸去污染处理。

3.反应液应在冰上操作，避免强光照射探针。所有组分充分解冻、混匀并短暂离心后使用。

4.样本基质、提取效率及 PCR 抑制均会影响定量结果。需要严谨比较时，建议设置外源过程控制或内参。

5.为了您的安全和健康，请穿实验服、佩戴手套及必要的眼面部防护，并按实验室规范处置废弃物。

七、反应体系

组分	体积（μL）	终浓度/说明
2× Probe qPCR Mix	10.0	1×
EAEC Primer & Probe Mix	3	-
模板/标准品/NTC	2.0	样本 DNA 或对应对照

【注】建议每个样本及标准品至少设置 2 个复孔。配制反应液时按实际孔数增加约 10% 余量。

宁波明舟生物科技有限公司　　电话：0574-87157013　　网址：https://www.mingzhoubio.com/

八、参考扩增程序

步骤	温度	时间	循环数	荧光采集
污染消化	37℃	2min	1	/
预变性	95℃	30s	1	/
变性	95℃	10s	5	/
退火	55℃	20s		
延伸	72℃	20s		
变性	95℃	10s	40	采集
退火、延伸及检测荧光	60℃	30s		

循环步骤	温度	时间	循环数	采集荧光
预变性	95℃	3 min	1	否
变性	95℃	10 sec	40	否
退火/延伸	60℃	30 sec	40	是

【注】荧光通道按探针标记选择（常用 FAM 通道）。如仪器要求，应设置 passive reference 为 None 或按所用 Mix 说明设置。

九、定量分析

1.将 5 个梯度标准品与待测样本同时扩增，以标准品 log10(拷贝数/反应) 为横坐标、Ct 值为纵坐标建立标准曲线。

2.建议标准曲线相关系数 $R^2 \geq 0.98$，扩增效率处于 90%～110%；复孔 Ct 差通常应 ≤0.5。

3.仪器软件依据标准曲线给出样本拷贝数。换算至原始样本时，应结合洗脱体积、反应加样体积、提取起始量及稀释倍数计算。

4.结果可按 copies/g、copies/mL，或经总细菌量、DNA 质量等归一化后报告。跨批次比较时应采用一致的提取与分析流程。

十、结果判定与质量控制

项目	合格标准	处理建议
NTC	无典型扩增曲线；Ct 未检出	若出现稳定扩增，排查污染并重做
标准品	扩增曲线呈规则梯度；$R^2 \geq 0.98$	不合格时检查配液、稀释与仪器设置
项目	合格标准	处理意见
样本	Ct 位于标准曲线有效范围内	高于上限时稀释；低于下限时报告低于定量限

宁波明舟生物科技有限公司 电话：0574-87157013 网址：https://www.mingzhoubio.com/

十一、适用机型

适用于具备相应荧光通道的常规实时荧光定量 PCR 仪，例如 Applied Biosystems 7500/QuantStudio 系列、Bio-Rad CFX96/CFX384、Roche LightCycler 480/96、Qiagen Rotor-Gene Q 等。使用前请确认反应体积、耗材及荧光通道与仪器兼容。

十二、重要说明

本说明书为按参考版式制作的科研产品技术模板。产品编号、装量、有效期、靶序列、定量范围、检出限及性能指标须由实际生产方完成设计验证后确认，并以最终标签和质量文件为准。