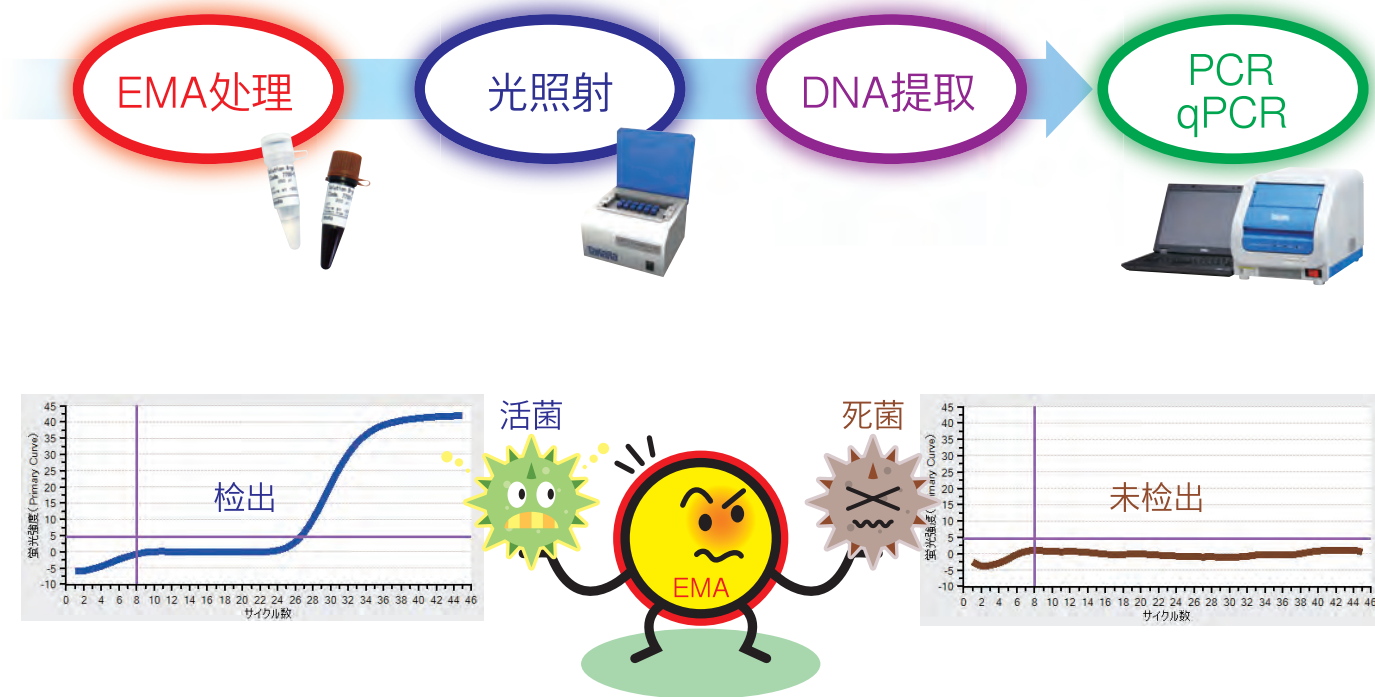


Takara Bio的新技术

利用PCR・qPCR选择性 筛选活菌来源DNA的检测方法



- 选择性检测活菌来源DNA的检测系统
- 可与各种PCR・qPCR检测系统组合使用

期待应用例！

- 快速验证杀菌和消毒效果
- 通过PCR检菌证明是活菌来源DNA
- 肠内活菌生存率的分析
- 验证培养罐及环境中的细菌生存率
- 快速化的生产线工程管理
- 检测不易培养的微生物



…等各种分支领域可以使用

解决了【不仅能检测活菌来源DNA，死菌来源DNA也可以检出】的基因检测课题！

EMA-PCR法是指…

EMA (ethidium monoazide) 是暴露在一种可见光下时可与核酸共价结合的选择性膜透过性色素。在含有活菌的检测样品中添加含有EMA的试剂后进行光照，试剂不能渗透至活菌内部，因而不能对活菌DNA进行化学修饰。但是死菌DNA及待检样品中含有的其他DNA经EMA光照照射后会产生化学修饰。

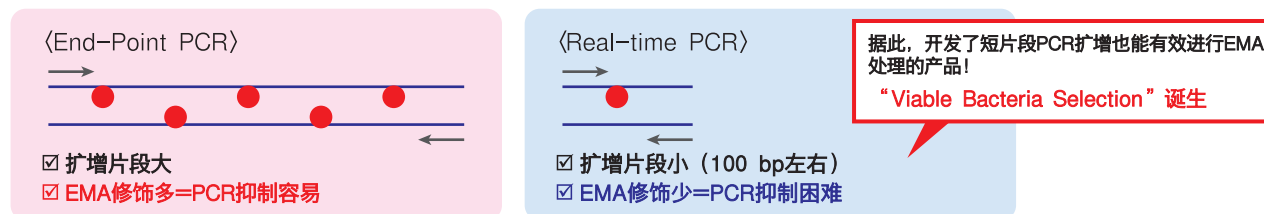
经EMA化学修饰后的DNA不能作为PCR反应的模板，因此EMA处理后的PCR方法只能检出活菌来源的DNA。

EMA-PCR法是指，EMA修饰了死菌来源的DNA，利用修饰后的DNA不能被PCR扩增的特点，选择性检出活菌来源的DNA的方法。

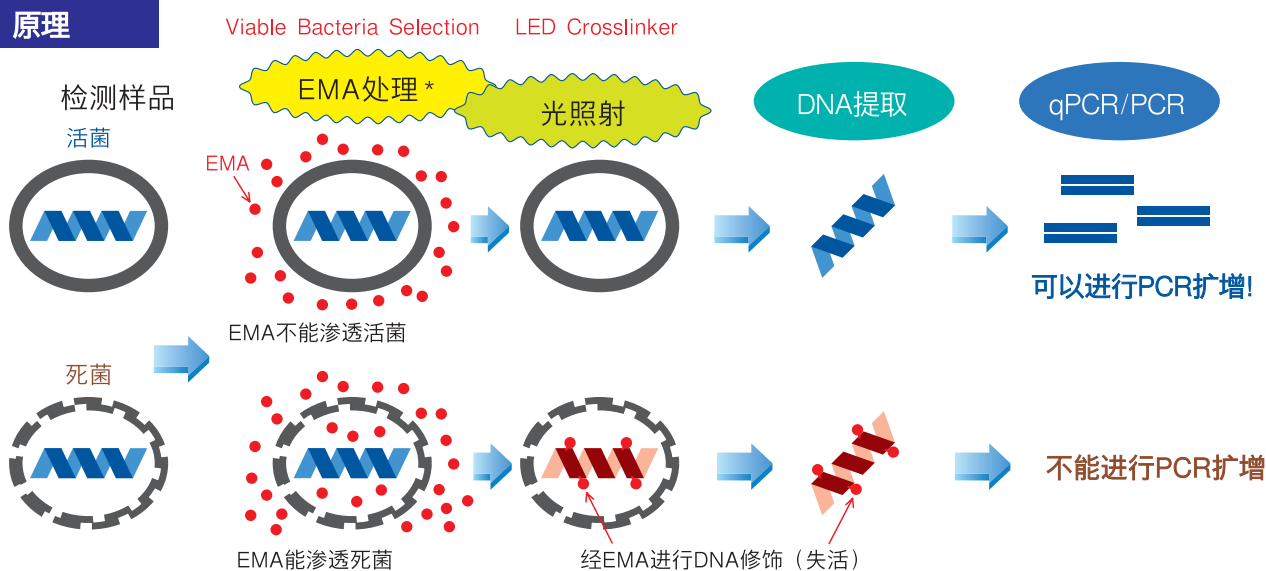
利用Takara Bio开发的技术，使EMA-PCR方法的应用范围更广。

以往的EMA-PCR方法，对于End-point PCR方法扩增大片断时，EMA更容易修饰，因此可以有效抑制死菌来源DNA的PCR扩增，但由于小片段DNA很难被EMA修饰，因此当扩增片段变小时，对于死菌来源DNA的抑制效果变差。

Takara Bio采用特别的研发技术开发了Viable Bacteria Selection System，实现了死菌DNA的高效修饰，在进行Real Time PCR (qPCR) 时，即使扩增100 bp左右的片段，也能对活菌DNA进行有效的选择性检出。

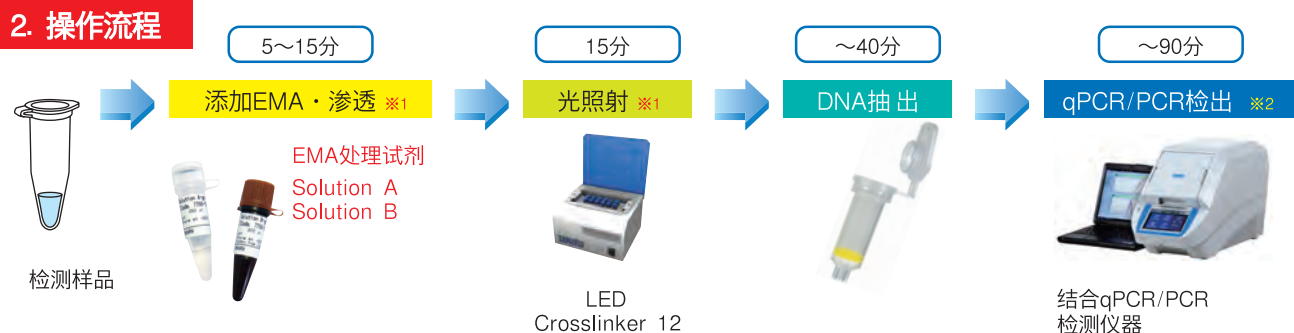


1. 原理



* 参考文献 Nogva HK, Dromtorp SM, Nissen H, Rudi K, Ethidium monoazide for DNA-based differentiation of viable and dead bacteria by 5'-nuclease PCR. *Biotechniques*. 2003 Apr; 34(4):804-8, 810, 812-3.

2. 操作流程



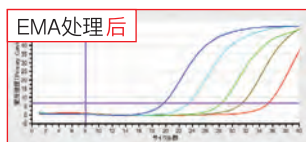
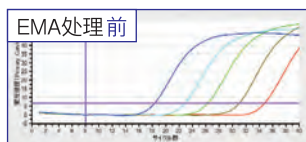
※1 EMA处理条件依照检出目的菌种及检测样品的种类进行了优化

※2 需要另外准备qPCR/PCR试剂。

3. 检测数据 (双歧杆菌的验证)

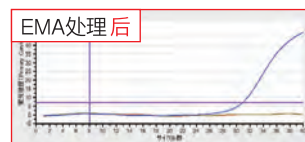
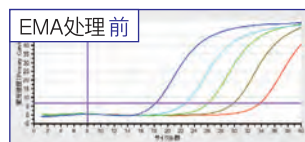
验证1. 对活菌的影响

培养的双歧杆菌 (*Bifidobacterium bifidum*) 使用生理盐水悬浮后作为活菌样品。取 $6 \times 10^6 \sim 6 \times 10^2$ 个活菌，按照操作流程分别制备不进行EMA处理、进行EMA处理两份样品，之后进行Real Time PCR (两步法) 检出。结果显示，EMA处理/未处理的样品能够得到相同的结果，从而确认对于EMA处理过的样品使用本试剂盒检测灵敏度不受影响。



验证2. 死菌的抑制效果

双歧杆菌 (*Bifidobacterium bifidum*) 活菌90℃热处理2分钟后作为死菌样品。取 $6 \times 10^6 \sim 6 \times 10^2$ 个死菌，按照操作流程分别制备不进行EMA处理、进行EMA处理两份样品，之后进行Real Time PCR (两步法) 检出。结果显示，使用本试剂盒对于EMA处理的样品，能够完全抑制至少 6×10^5 个死菌。



EMA处理试剂盒

★军团菌检测专用的EMA试剂

Viable *Legionella* Selection Kit for LC EMA-qPCR (Code No.7730)

〈制品内容〉 50次量

• Solution A-leg (LC)	625 μ l $\times$ 2
• Solution B-leg (LC)*	200 μ l $\times$ 4



Viable *Legionella* Selection Kit for LC EMA-qPCR (Code No.7730s)

〈制品内容〉 25次量

• Solution A-leg (LC)	625 μ l $\times$ 1
• Solution B-leg (LC)*	200 μ l $\times$ 2

光照射装置

★更方便日常使用!

通过使用搭载高亮度LED灯的专用装置，能够得到准确度更高且稳定的数据。

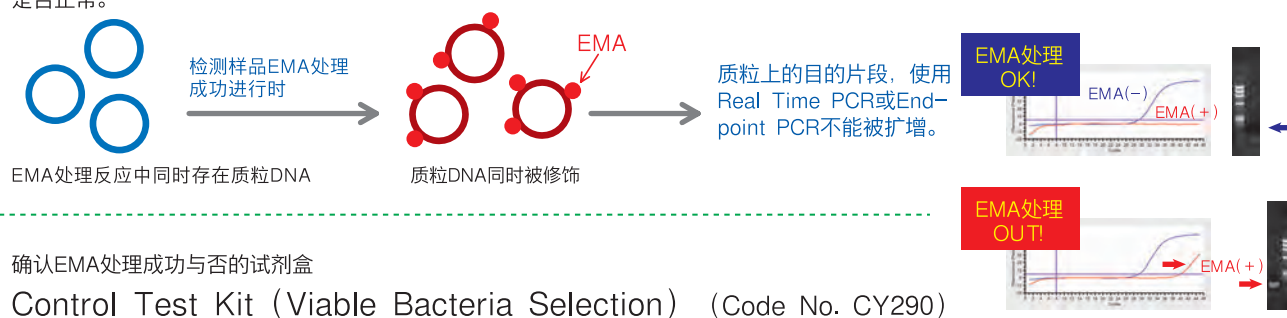
光照射专用装置 (可同时处理12个1.5ml tube)
LED Crosslinker 12 (Code No. EM200)



确认EMA处理成功与否的试剂盒

★能够判断EMA处理实验样品是否成功

本制品是对样品进行EMA处理时，用于确认样品无反应阻害性、EMA处理正常的试剂盒。组分中预先添加了反应确认用质粒DNA，如果样品EMA处理正常，质粒DNA也会同时被EMA修饰，从而不能进行PCR扩增。因此，以质粒DNA作为模板进行PCR扩增，可确认EMA处理是否正常。



产品名称	概要	包装量	Code No.
确认EMA处理反应的试剂			
Control Test Kit (Viable Bacteria Selection)	确认EMA处理成功与否的试剂盒	50 次	CY290
光照射装置			
LED Crosslinker 12	EMA处理的光照射装置。可一次同时处理12个样品	一台	EM200
Real Time PCR装置			
Thermal Cycler Dice™ Real Time System III with PC	96孔板，搭载英文说明的软件	一台	TP970
沙门氏菌			
CycleavePCR™ <i>Salmonella</i> Detection Kit Ver.2.0	qPCR用试剂，检出目的基因为 <i>invA</i> 基因	50 次	CY205
肠出血性大肠埃希氏菌			
CycleavePCR™ O-157 (VT gene) Screening Kit Ver.2.0	qPCR用试剂，检出目的基因为VT基因	50 次	CY217A
		50 次	CY217B
弯曲菌			
CycleavePCR™ <i>Campylobacter (jejuni/coli)</i> Typing Kit	qPCR用试剂，检出目的基因为 <i>cdtC</i> 基因	50 次	CY225
军团菌属			
CycleavePCR™ <i>Legionella</i> (16S rRNA) Detection Kit	qPCR用试剂，检出目的基因为16S rRNA基因	25 次	CY240S
		50 次	CY240

- 本宣传页上登载的制品, 都是以科研为目的。请不要用于其它方面, 如: 不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可, 严禁产品的转售・转让、以转售・转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认: <http://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及名称即使没有特殊标注, 使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品信息是2018年11月1日的信息, 最新信息请参考公司官网。

宝日医生物技术（北京）有限公司

Takara Biomedical Technology (Beijing) Co.,Ltd.

技术咨询电话: 4006518761 4006518769
E-mail: service@takarabiomed.com.cn

Ver.1 2018年11月制作



www.takarabiomed.com.cn