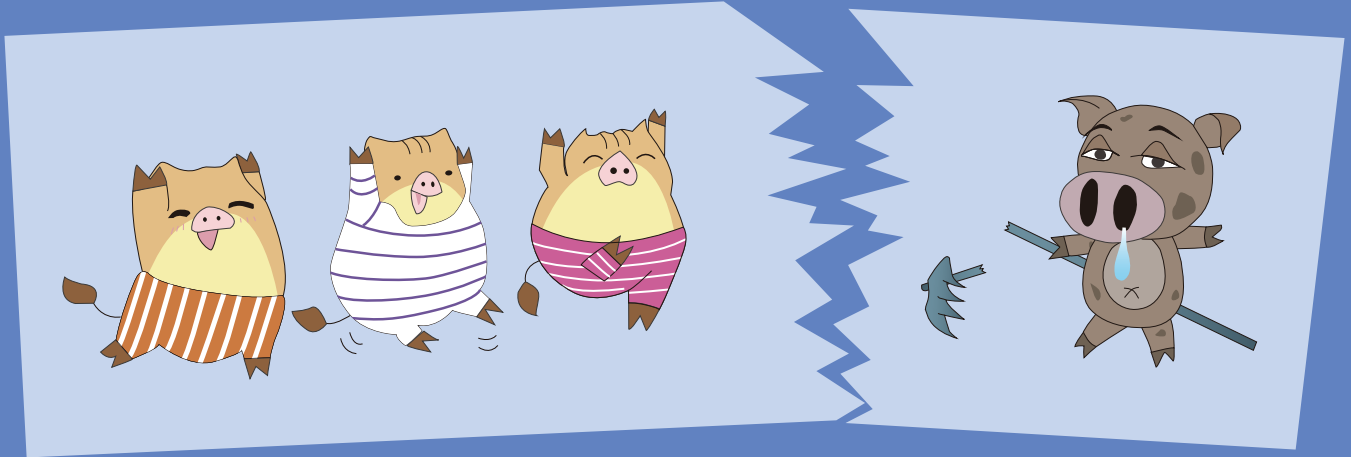


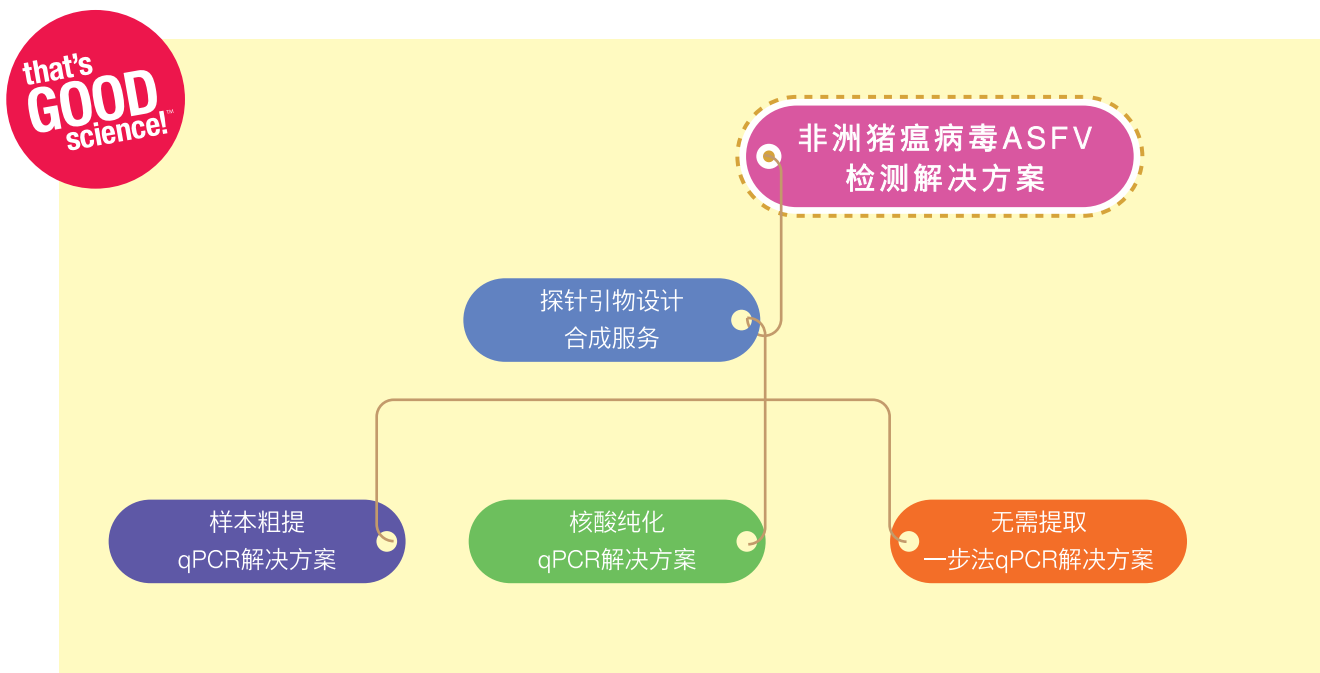
# Takara非洲猪瘟病毒检测完整解决方案



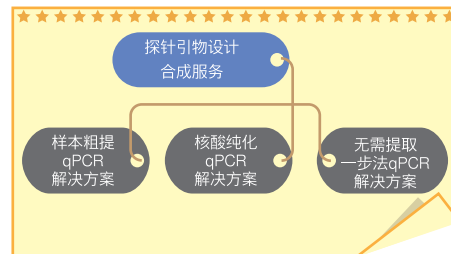
非洲猪瘟病毒 (African Swine Fever Virus, ASFV) 是一种古老的、高度传染的、能够使家猪和野猪致死的病毒，以高热、网状内皮系统出血和高死亡率为特征。2018年8月中国确诊首例非洲猪瘟疫情开始，一年多的时间，非洲猪瘟已经席卷了黑龙江、江苏、浙江、内蒙古、辽宁、山西等33个省份，给养殖业带来了巨大损失，猪肉价格也节节攀升登上历史高位。

目前我国大多数的ASFV感染病例属于急性-亚急性。通过实验室检测，对非洲猪瘟病毒进行快速、可靠的早期诊断，对于防止疫病的传播非常重要和必要的。根据2018年8月中国动物卫生与流行病学中心和中国动物疫病预防控制中心编制的《非洲猪瘟病毒检测操作规程》，需要使用实时荧光定量PCR方法对非洲猪瘟病毒进行检测。

Takara作为分子生物学试剂行业内的重要一员，多年来持续不断地为中国各科研院校、检验检疫单位和各种检测机构提供性能稳定、高效高质量的研究用试剂，受到广大生物学研究人员的支持和好评。Takara可以提供从探针、引物合成到定量PCR检测的多种灵活的非洲猪瘟病毒ASFV检测解决方案。



# 非洲猪瘟病毒 (ASFV) 检测用引物、探针设计合成



序号	Oligo名称	碱基序列* (5' to 3'方向)	碱基数	5'修饰	3'修饰
01	ASFV-引物F	CTG CTC ATG GTA TCA ATC TTA TCG A	25		
02	ASFV-引物R	GAT ACC ACA AGA TC(AG) GCC GT	20		
03	ASFV-探针P	CCA CGG GAG GAA TAC CAA CCC AGT G	25	FAM	TAMRA

\* 已经有众多客户在Takara合成上述序列用于ASFV的定量PCR检测。

## Takara为您提供引物、探针合成方案

### ▶ 设计+合成

- 提供高质量引物和探针       价格相对较低

请点击查看: [Oligo DNA/RNA合成服务简要说明](#)。

## ASFV检测解决方案1: 样本粗提 & qPCR

### 样本DNA快速提取

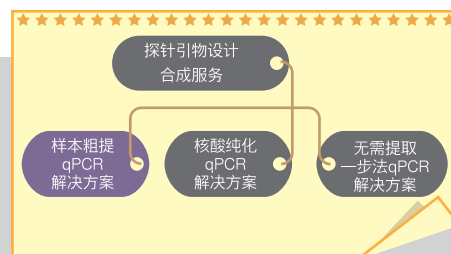
MightyPrep reagent for DNA (Code No. 9182) \*



### 阻害物抵抗性高的qPCR试剂

Probe qPCR Mix (Code No. RR391A) \*

\*2019年6月, 中国动物疫病预防控制中心公布认可的非洲猪瘟快检试剂生产企业中, 部分企业使用了该方案作为ASFV检测试剂盒的原料。



♥ **MightyPrep reagent for DNA (Code No. 9182)** 是用于从小鼠尾等动物组织及植物组织、血液、加工食品、土壤、菌体等中简便、高收量的制备PCR用模板DNA的试剂。使用时在样品中添加本试剂, **仅需95°C加热10分钟即可简易提取DNA。**

### 特点

- ◆ 添加试剂 (MightyPrep reagent for DNA) 后, 仅需95°C加热10分钟即可简易提取DNA。
- ◆ 只有一种添加试剂! 可直接使用。
- ◆ 与阻害物抵抗性高的PCR试剂配套使用, 可对宽广范围内的样品进行PCR扩增。

## 操作流程

### 15分钟的快速操作



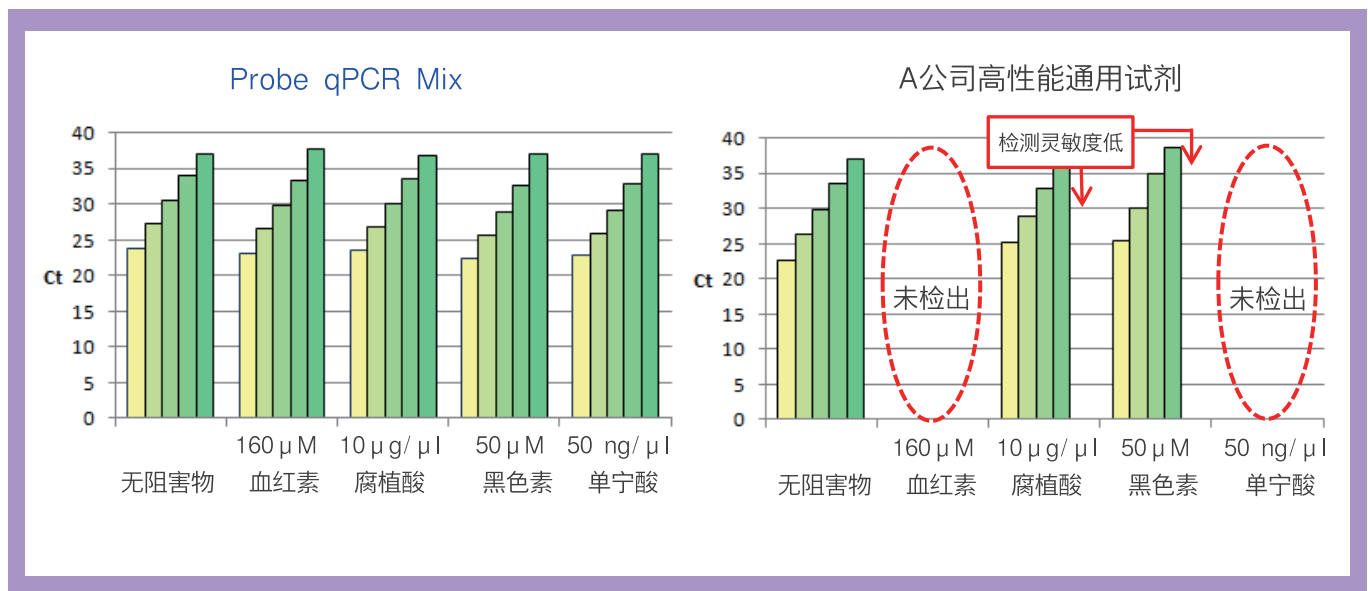
### 推荐阅读：样本DNA的快速简易提取

♥ **Probe qPCR Mix (Code No. RR391A)** 是采用探针法进行Real Time PCR (qPCR) 检测的试剂。通过对添加了抗体的Hot Start PCR酶和Real Time PCR用Buffer分别进行了改良，实现了**PCR阻害物抵抗性高、扩增特异性高、扩增效率高、检测灵敏度高**。

## 实验例

### 各种PCR阻害物对Ct值的影响评价

已知血红素（血液成分）、腐植酸（土壤成分）、黑色素（皮肤和毛发成分）、单宁酸（植物成分）对PCR反应有很强的阻害作用，对在PCR反应中添加PCR阻害物的反应体系和未添加PCR阻害物的反应体系进行了Ct值比较。本制品同其他公司同类制品相比，对PCR阻害物的抵抗性明显提高，使用目前为止不能获得良好反应结果的检测样品也能够期待获得高成功率、高检测灵敏度的PCR反应。



模板：HL60基因组DNA

- 170 ng
- 17 ng
- 1.7 ng
- 170 pg
- 17 pg / 20 μl 反应体系

- 靶基因 : 人 *ACTB* (使用 Dual Labeled Probe)
- qPCR扩增仪 : Applied Biosystems 7500 Fast System
- qPCR反应条件 : 95°C 20 sec  
95°C 3 sec  
60°C 30 sec } 40 cycles

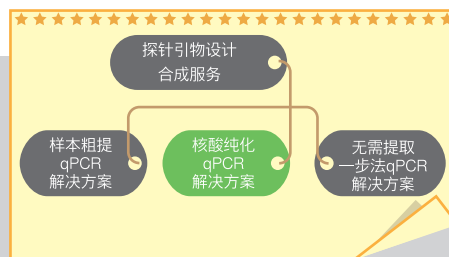
反应时间：39分钟

(Takara Bio Inc.比较结果)

## ASFV检测解决方案2: 核酸提取 & qPCR

### 病毒核酸提取

TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0 (Code No. 9766)



### 探针法/染料法qPCR试剂

Probe qPCR Mix MultiPlus (Code No. RR393) \*

CoverAll Probe qPCR Mix (Code No. TCH032-035) \*

\*2019年6月，中国动物疫病预防控制中心公布认可的非洲猪瘟快检试剂生产企业中，部分企业使用了该方案作为ASFV检测试剂盒的原料。

♥ **TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0 (Code No. 9766)**是专门用于从血浆、全血、无细胞体液、病毒原液和感染病毒的组织中提取各种病毒 (Virus) RNA/DNA的小量纯化试剂盒，具有高效、快速、方便之特点，病毒裂解后，提取操作仅需20分钟便可完成。

♥ **Probe qPCR Mix MultiPlus (Code No. RR393)**采用5' -核酸酶法的探针检测专用Real Time PCR (qPCR) 试剂。通过对添加了抗体的Hot Start PCR酶和Real Time PCR用Buffer分别进行了改良，可以在宽广的动态范围内实现高速、高特异性扩增。

### 特点

1. 探针检测用2×Premix qPCR试剂。
2. 改良型Hot Start PCR酶和PCR缓冲液可进行快速反应。
3. 支持多重qPCR检测。
4. Tli RNaseH和UNG可抑制PCR反应产生的假阳性。

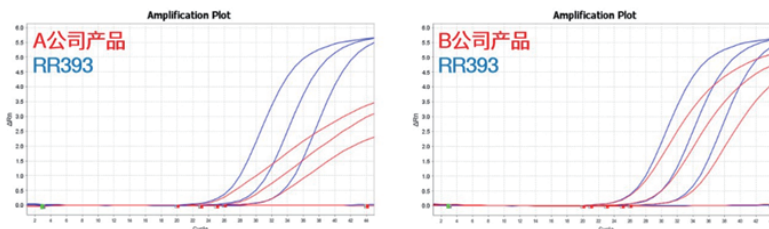
Quantity (copies)	Ct值		Delta RN	
	Takara	其他公司产品	Takara	其他公司产品
5	---	---	0.00	0.00
	---	---	-0.01	0.00
	38.48	---	0.60	0.00
	38.34	---	0.63	0.00
	37.72	38.24	0.87	0.67
	37.48	38.24	0.97	0.69
	37.34	38.08	1.06	0.74
	36.82	37.74	1.34	0.84
50	34.82	34.88	2.38	2.32
500	31.36	31.55	4.41	3.89
5,000	28.30	28.31	5.04	5.24
50,000	24.83	24.70	5.38	6.03

## 实验例

### 扩增能力的比较

使用MGB探针检测新品RR393与其他公司产品对HCV基因的扩增效果。

结果显示，与其他公司产品相比，新品RR393的Ct值及信噪比更好或相当。

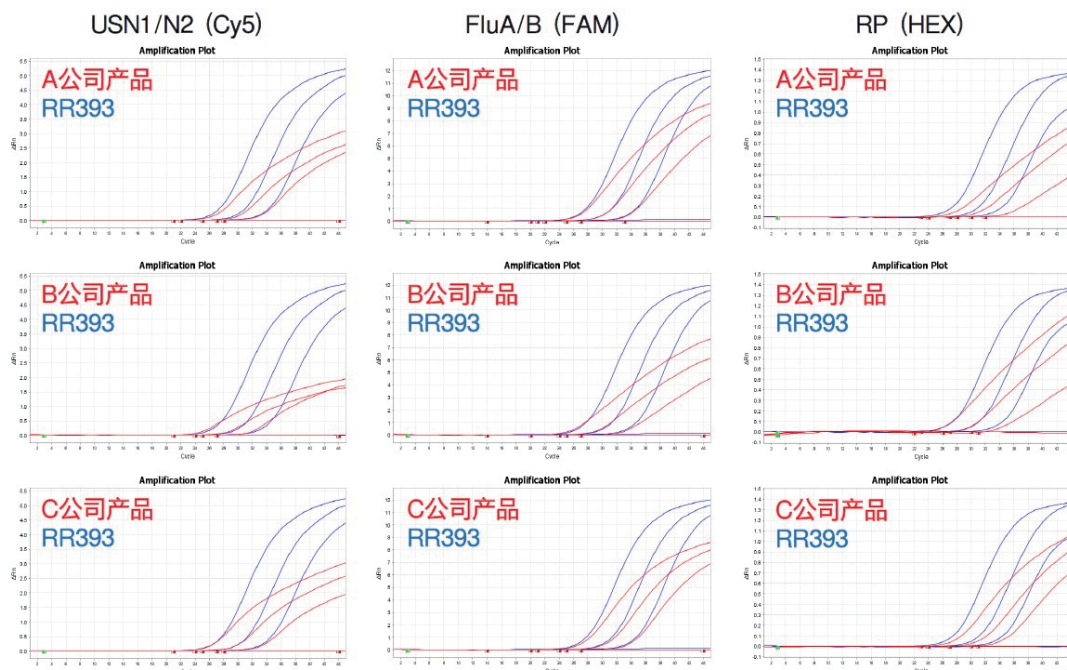


(Takara Bio Inc.比较结果)

### 稳定性试验

使用MGB探针检测新品RR393与其他公司产品对HCV基因的扩增效果。

结果显示，与其他公司产品相比，新品RR393的Ct值及信噪比更好或相当。



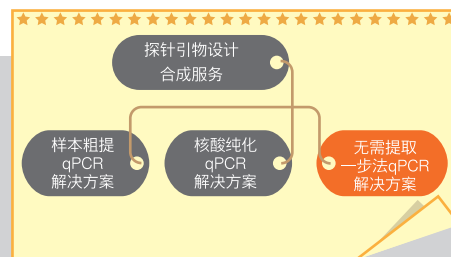
### 多重qPCR能力的比较

#### · 关联制品

用途	Code No.	产品名称	特点
探针法qPCR	RR390A	Premix Ex Taq™ (Probe qPCR)	高扩增效率、高扩增灵敏度
	RR391A	Probe qPCR Mix	1. 成熟产品，稳定性强 2. 抗阻害性强
	RR392A	Probe qPCR Mix, with UNG	1. UNG+; 2. -20℃不冻结无需融解过程; 3. 5X浓度，可以添加更多检测模板
	TCH032	CoverAll Probe qPCR Mix II (5X)	1. UNG+; 2. 荧光信号高; 3. 综合性能高; 4. 对部分模板扩增有优势
	TCH033	CoverAll Probe qPCR Mix III (2X)	1. 综合性能高; 2. 可实现更快的反应速度
	TCH034	CoverAll Probe qPCR Mix IV (2X)	1. 反应特异性高; 2. 对部分模板扩增有优势
	TCH035	CoverAll Probe qPCR Mix V (2X)	—
	TCH037	ROX Reference Dye (50X)	—
染料法qPCR	CN830A	TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR	高速反应、高特异性、高荧光信号、防止carryover污染 预先混有通用参比染料和可视化色素
	RR820A	TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)	特异性强
基因组DNA提取试剂	9765	TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0	—
病毒RNA/DNA提取试剂	9766	TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0	—

## ASFV解决方案3: 无需提取·直接qPCR

血液、尿液、粪便、细胞等直接进行一步法RT-qPCR  
PrimeDirect® Probe RT-qPCR Mix (or with UNG)  
(Code No. RR650/RR651)



♥ PrimeDirect® Probe RT-qPCR Mix (or with UNG) (Code No. RR650/RR651) 是基于探针法检测的一步法 Real Time RT-PCR试剂。本制品为2× premix型试剂，只需添加用于检测目的基因的引物、探针和模板即可进行反应。由于本制品在反应液中能够直接从生物样本中提取核酸，对于含有RNA病毒等的生物样品，可直接添加到反应液中进行Real Time PCR反应。由于核酸提取、反转录、qPCR各反应连续进行，大大提高了操作简便性，减少了反应时间。

### 特点

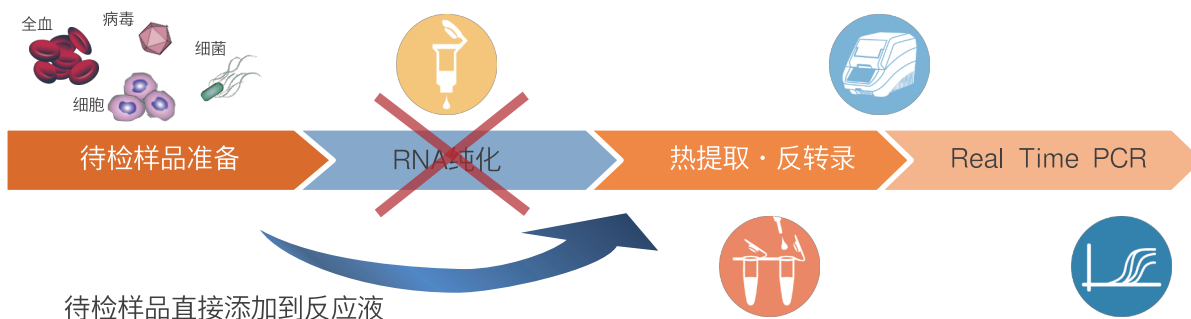
#### 活体样品起始简便快速进行Real Time PCR检测

🧪 探针法one step RT-qPCR premix试剂

🦠 血液、尿液等样品无需RNA纯化也可进行Real Time PCR

📈 通过UNG\*的作用，可以有效防止carryover contamination产生的假阳性

\* 使用PrimeDirect Probe RT-qPCR Mix, with UNG (Code No. RR651) 时通过UNG的作用，可以有效防止carryover contamination产生的假阳性



推荐阅读: 活体样品起始的探针法RT-qPCR

除目录产品的解决方案外, Takara还能提供.....

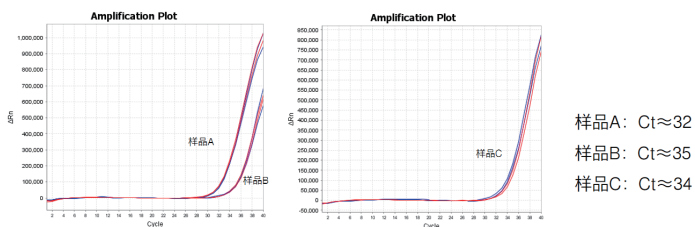
👉 贴牌生产 (OEM) 和按订单生产

qPCR产品已经成为病原体检测, 疾病筛查、鉴定等需求的重要检测手段, 方便、易于操作的产品也成为了新品开发的主流趋势, 其中premix型试剂因其操作便捷性备受青睐。

Takara可以按客户需求免费为客户定制开发预混Primer/Probe的qPCR产品——只需加入模板即可进行检测, 大大简化了操作过程, 降低对操作人员的要求。

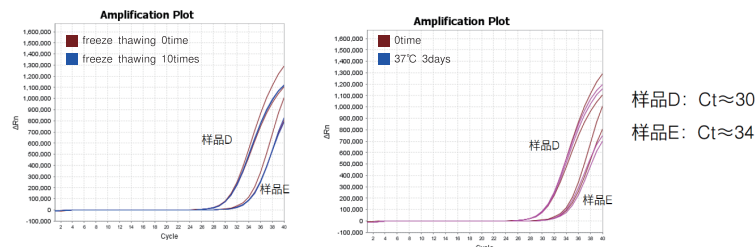


【案例】含有ASFV Primer/Probe的Premix，4℃ 7天保存后，进行组织提取DNA（低浓度样品）的扩增



结论：含有Primer/Probe的Premix，经过4℃ 7天保存，即使对低浓度样品，仍有稳定的反应性能。

【案例】含有ASFV Primer/Probe的Premix，经过-80<->RT 10次的反复冻融，或 37℃ 3天保存后，进行组织提取DNA的扩增



结论：含有Primer/Probe的Premix，经过10次冻融，或37℃ 3天保存，即使对低浓度样品，仍有稳定的反应性能。

可以根据客户需求定制任意形式产品，可以定制单组分，也可以定制整套试剂

No.	产品	产品介绍	用途
1	前处理液	核酸简易提取试剂	可从血液（全血）、血清、脏器、乳汁等样本中快速提取核酸
2	反应液	DNA起始：含有反应聚合酶，dNTP，Buffer等qPCR反应组成 RNA起始：含有反应RT酶，Inhibitor，聚合酶，dNTP，Buffer等RT-PCR反应组成	根据客户不同需求提供不同形式PCR反应液。反应液中可以添加UNG酶，可防止由于PCR扩增产物残留而导致的假阳性
3	Primer/Probe Mix	可以是一种基因也可以是多种基因Mix 探针可以有多种荧光标记，同时可以合成MGB探针和LNA探针	目的基因扩增用 内参基因扩增用，通常是检测物种的内参基因，监控整个实验操作是否正常，避免假阴性产生。
4	One Mix	包含PCR反应液和目的引物探针 One mix可以对应单重或者多重PCR	根据客户不同需求提供不同形式One Mix PCR反应液，只需添加模板即可反应。
5	Positive Control模板	DNA起始：通常为线性化质粒 RNA起始：通常为转录RNA	产品质控用，通过对阳性模板扩增效率、感度、相关系数（R2）、Ct值结果监控，控制产品质量。 样品检测时阳性对照，通过对阳性模板扩增判定本次PCR反应是否正常，避免假阴性产生。

Takara对于各种形式的商务合作持开放态度，诚挚欢迎您就业务合作与我们联系，请发邮件至Bulkorder@takarabiomed.com.cn。

- 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：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品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2024年4月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.2 2024年4月制作

宝日医生物技术（北京）有限公司

电话：4006518761 4006518769  
E-mail: service@takarabiomed.com.cn  
网址: www.takarabiomed.com.cn