

大肠杆菌探针法 LAMP 试剂盒

Escherichia coli Probe LAMP Kit

目录号: **ml107939**

使 用 说 明 书

产品及特点

大肠杆菌 (Escherichia coli, E. coli) 为埃希氏菌属 (Escherichia) 代表菌。一般多不致病, 为人和动物肠道中的常居菌, 在一定条件下可引起肠道外感染。但某些血清型菌株的致病性强, 引起腹泻, 统称致病性大肠杆菌, 又叫致泻性大肠杆菌, 根据致病性的不同, 这些致泻性大肠埃希菌被分为五种。检测致病性和非致病性大肠杆菌是食品行业 (包括饮用水) 的一个重要的安全指标, 因此对致病性和非致病性大肠杆菌的快速准确鉴定有重要作用, 为此本公司根据独有的探针法 LMAP 技术, 开发了简单快捷的大肠杆菌 LAMP 检测试剂盒, **它具有下列特点:**

1. 即开即用, 用户只需要提供 DNA 样品。
2. 恒温扩增, 简单快捷。
3. 含荧光探针, 扩增的专一性比染料法和电泳法更强。
4. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。

	5. 一般 30 分钟内出结果，比 PCR 快。 6. 上样量大，对 20 μL 的反应体系，样品加样量高达 14 μL。 7. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。 8. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。 9. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。 10. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 LAMP 扩增。 11. 只可用于科研。		
规格及成分	成分	规格	包装
	4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）	200 μ L	0.5mL 绿盖
	Bst DNA 聚合酶 2.0	50 μ L	0.5mL 红盖管
	20×大肠杆菌 LAMP 引物-探针干粉	50 次	0.5mL 棕色管
	大肠杆菌 LAMP 阳性对照（1E4 拷贝/ μ L）	250 μ L	0.5mL 黄盖管
	超纯水	1mL	1.5mL 蓝盖管
	使用手册	1 份	无
	本产品采购五孔盒包装		
	注意：引物干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 110 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。		
使用方法	一、样品 DNA 的制备 1. 用自选方法纯化样品 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容，包括本公司的免提取的核酸释放剂。 2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个样品制备，包括一个样品制备阳性对照（PC）和一个样品制备阴性对照（NC）。PC 用 10 μL 本试剂盒提供的阳性对照（1E4 拷贝/μL）加一定量的水作为		

样品制备 PC，加水后的总体积跟所用核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。NC 用水替代。

二、LAMP 反应 (20 μ L 体系)

3. 反应设置: 第一次使用时请把所有 Bst DNA 聚合酶 2.0 (50 μ L, 本试剂盒提供) 加入到 4 $\times$ LAMP MasterMix (探针法, 待加酶) 中, 轻柔颠倒 20 次充分混匀, 然后再取用。如果有 N+2 个 DNA 纯化样品, 则设置 N+4 个 LAMP 扩增, 增加 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照各 1 个。

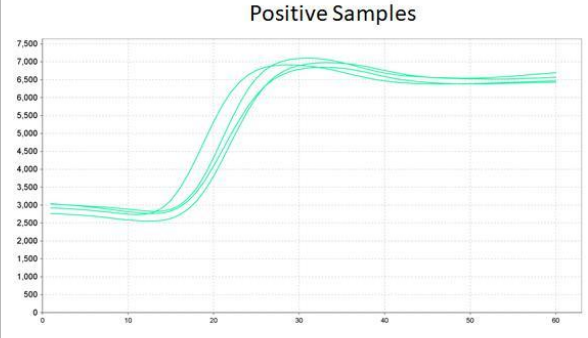
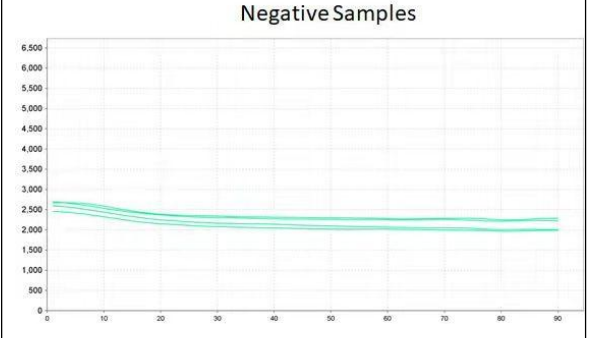
在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分:

成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4 $\times$ LAMP MasterMix (探针法, 加酶后)	各 5 μ L	5 μ L	5 μ L
20 $\times$ 大肠杆菌 LAMP 引物-探针混合液	各 2 μ L	2 μ L	2 μ L
N+2 个样品 DNA	各 13 μ L	-	-
超纯水	-	13 μ L	-
第 2 步所得阳性对照的 10 倍稀释液	-	-	13 μ L

4. 置于荧光定量 PCR 仪中 65 $^{\circ}$ C 保温 60 分钟进行扩增, 每分钟在 Cy5 通道采集一次荧光信号。

三、结果分析

5. 样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的反应液将有标准的 S 扩增曲线, 样品制备阴性对照和 LAMP 阴性对照的反应液将没呈平线, 没有 S 曲线, 否则提取实验或扩增实验无效。如果阳性和阴性对照结果正常, 则实验有效, 可以分析样品的情况。样品管的荧光曲线为 S 型, 则说明样品为阳性, 如果为平线则说明待测样品为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性, 右边为阴性。

	 Positive Samples  Negative Samples
自备试剂	待测样品。
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 2 年。