

细菌通用探针法 LAMP 试剂盒

Bacteria Probe LAMP Kit

目录号: ml107948

使 用 说 明 书

产品及特点

细菌广义的细菌即为原核生物是指一大类细胞核无核膜包裹，只存在称作拟核区的裸露 DNA 的原始单细胞生物，包括真细菌和古生菌两大类群。人们通常所说的即为狭义的细菌，狭义的细菌为原核微生物的一类，是一类形状细短，结构简单，多以二分裂方式进行繁殖的原核生物，是在自然界分布广、个体数量有机体，是大自然物质循环的主要参与者。因此对细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 LAMP 技术，开发了简单快捷的细菌 LAMP 检测试剂盒，它具有

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	<table><tr><th>成分</th><th>规格</th><th>包装</th></tr><tr><td>4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）</td><td>200μL</td><td>0.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>Bst DNA 聚合酶 2.0</td><td>50μL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>20×细菌通用 LAMP 引物-探针干粉</td><td>200μL</td><td>0.5mL 棕色管</td></tr><tr><td>细菌通用 LAMP 阳性对照（1E4 拷贝/μL）</td><td>250μL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>1mL</td><td>1.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>1 份</td><td>无</td></tr><tr><td colspan="3">本产品采购五孔盒包装</td></tr></table>			成分	规格	包装	4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）	200μL	0.5mL 绿盖管	Bst DNA 聚合酶 2.0	50μL	0.5mL 红盖管	20×细菌通用 LAMP 引物-探针干粉	200μL	0.5mL 棕色管	细菌通用 LAMP 阳性对照（1E4 拷贝/μL）	250μL	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		
	成分	规格	包装																								
	4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）	200μL	0.5mL 绿盖管																								
	Bst DNA 聚合酶 2.0	50μL	0.5mL 红盖管																								
	20×细菌通用 LAMP 引物-探针干粉	200μL	0.5mL 棕色管																								
	细菌通用 LAMP 阳性对照（1E4 拷贝/μL）	250μL	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。

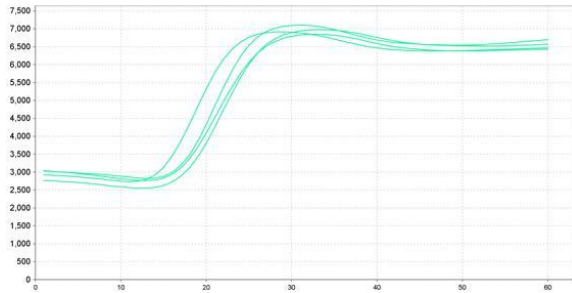
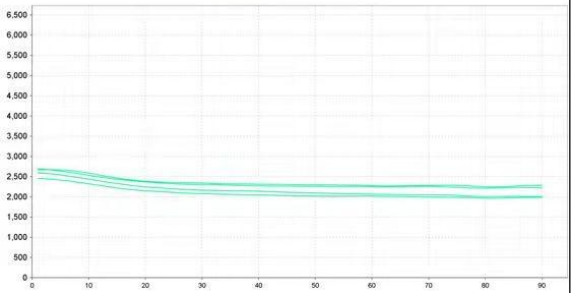
在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分:

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 $\times$ 细菌通用 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 FAM 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, 无 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。

	 
自备试剂	待测样品。
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。