

天
净
沙
系
列

CAT#:13-18912

低温运输, -20℃保存

BINGENE

猪链球菌 2 型 PCR 检测试剂盒

Streptococcus Suis Type 2 PCR Kit

使用手册 V1.0

北京克必隆分子诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>猪链球菌是具有荚膜的一种革兰氏阳性球菌。根据其荚膜抗原（CPS 的不同，猪链球菌被分为 35（1-34 型, 1/2 型）种血清型, 其中 1, 2, 7, 9 型是猪的致病菌。猪链球菌的定植部位为猪的上呼吸道，尤其是扁桃体和鼻腔。主要通过伤口感染。可引起猪的急性败血症、脑膜炎、关节炎、心内膜炎、肺炎等疾病。部分菌株可引起人类感染，造成细菌性脑炎或引起中毒样休克综合征。本产品是根据 PCR 原理开发检测猪链球菌 2 型的试剂盒，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。 2. 产品经过精心优化，分析灵敏性能到达 100 拷贝/反应。 3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。 4. 特异性高，引物是根据猪链球菌 2 型 DNA 高度保守区设计，<i>in silico</i> 分析发现它只能检测猪链球菌 2 型，不会跟除此之外的其他细菌的 DNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的常规 PCR 反应。 6. 本产品只能用于定性实验，不能用于定量实验。 7. 本产品只能用于科研。 																				
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="475 1182 1455 1570"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编号</th> <th>五孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PCR MagicMix 3.0</td> <td>90805</td> <td>500 μL（红盖）</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>100935</td> <td>1mL（紫盖）</td> </tr> <tr> <td>猪链球菌 2 型 PCR 引物混合液</td> <td>yw13-18912</td> <td>100 μL（白盖）</td> </tr> <tr> <td>猪链球菌 2 型 PCR 阳性对照 (1×10^7 拷贝/μL)</td> <td>pc18912</td> <td>50 μL（黄盖）</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-18912sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>注：为避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供专一的 DNA 片段作为阳性对照。</p>			成 份	编号	五孔盒包装	PCR MagicMix 3.0	90805	500 μ L（红盖）	超纯水	100935	1mL（紫盖）	猪链球菌 2 型 PCR 引物混合液	yw13-18912	100 μ L（白盖）	猪链球菌 2 型 PCR 阳性对照 (1×10^7 拷贝/ μ L)	pc18912	50 μ L（黄盖）	使用手册	13-18912sc	1 份
成 份	编号	五孔盒包装																			
PCR MagicMix 3.0	90805	500 μ L（红盖）																			
超纯水	100935	1mL（紫盖）																			
猪链球菌 2 型 PCR 引物混合液	yw13-18912	100 μ L（白盖）																			
猪链球菌 2 型 PCR 阳性对照 (1×10^7 拷贝/ μ L)	pc18912	50 μ L（黄盖）																			
使用手册	13-18912sc	1 份																			
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20°C 保存，保存期限为 12 个月。</p>																				
<p>自备试剂</p>	<p>样品 DNA</p>																				
<p>使用方法</p>	<p>一、样品 DNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 如果有 N 个细菌样品，必须设置 N+2 个提取反应，多出的两个中一个是 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用试剂盒提供的猪链球菌 2 型 PCR 阳性对照（1×10^7 拷贝/μL，本试剂盒提供）用水 																				

稀释 1000 倍后得到的稀释液 (1×10^4 拷贝/ μL) 10 μL 加上一定量的水作为制备的阳性对照 (加水后其总体积跟样品体积一样, 样品体积多少取决于所用试剂盒的要求)。可以直接用水作为制备的阴性对照。

- 用自选方法纯化上述 N+2 个样品的 DNA。本试剂盒跟市场上大多数细菌 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选用本公司的相关的核酸提取试剂盒。

二、设置 PCR 反应 (20 μL 体系)

- 标记 N+4 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 DNA 样品, 额外增加的两个管一个用于 PCR 阳性对照, 另一个用于 PCR 阴性对照。按照下表在各 PCR 管中加入下列成分:

成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
PCR MagicMix 3.0	各 10 μL	10 μL	10 μL
猪链球菌 2 型 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
制备的 N+2 个 DNA 样品	各 8 μL	不加	不加
超纯水	不加	8 μL	不加
第 1 步所得猪链球菌 2 型 PCR 阳性对照稀释液 (1×10^4 拷贝/ μL)	不加	不加	8 μL

- 上机进行 PCR, PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}\text{C}$	5 分钟
PCR 反应 (40 个循环)	95 $^{\circ}\text{C}$	15 秒
	55 $^{\circ}\text{C}$	30 秒
	72 $^{\circ}\text{C}$	30 秒
延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	10 分钟

三、电泳分析

- 取 10 μL 扩增产物进行常规琼脂糖电泳, 检测扩增效果, 由于扩增产物较短, 建议用 1.5%-2.0% 的琼脂糖凝胶。
- 如果两个阴性对照 (样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照) 有扩增产物, 说明环境污染, 则整个实验无效, 不需要分析实验结果。如果所有样品和 PCR 阳性对照均无此扩增产物, 则说明有系统性的问题 (试剂, 设备, 程序, 操作等), 需要重复并排查原因。
- 如果没有上述两种情况, 则实验有效, 可以分析样品的扩增结果。N+2 个样品中扩增产物的判断为阳性, 无则判定为阴性。

关联产品

猪链球菌 2 型 PCR 检测试剂盒

20210831dx