

天
净
沙
系
列

CAT#:13-21840

低温运输, -20℃保存

BINGENE

梅毒螺旋体(苍白密螺旋体)PCR 检测试剂盒

Treponema pallidum PCR Kit

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6605850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	梅毒螺旋体(苍白密螺旋体) (Treponema pallidum) 是感染性疾病梅毒的病原体，主要通过性传播和母婴传播，晚期可以发生神经损害。因此梅毒的早期诊断十分重要。本产品是根据 PCR 原理开发的梅毒螺旋体检测试剂盒，它具有下列特点： 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 E2 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，引物是根据梅毒螺旋体 DNA 高度保守区设计，<i>in silico</i> 分析发现它只能检测梅毒螺旋体，不会跟除此之外的其他的 DNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 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。																				
规格及成分	<table><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>500μL（红盖）</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>100935</td><td>1mL（紫盖）</td></tr><tr><td>梅毒螺旋体 PCR 引物混合液</td><td>yw13-21840</td><td>100μL（白盖）</td></tr><tr><td>梅毒螺旋体 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝 / μL)</td><td>pc21840</td><td>50μL（黄盖）</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-21840sc</td><td>1 份</td></tr></tbody></table> 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。			成 份	编号	五孔盒包装	PCR MagicMix 3.0	90805	500μL（红盖）	超纯水	100935	1mL（紫盖）	梅毒螺旋体 PCR 引物混合液	yw13-21840	100μL（白盖）	梅毒螺旋体 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝 / μL)	pc21840	50μL（黄盖）	使用手册	13-21840sc	1 份
成 份	编号	五孔盒包装																			
PCR MagicMix 3.0	90805	500μL（红盖）																			
超纯水	100935	1mL（紫盖）																			
梅毒螺旋体 PCR 引物混合液	yw13-21840	100μL（白盖）																			
梅毒螺旋体 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝 / μL)	pc21840	50μL（黄盖）																			
使用手册	13-21840sc	1 份																			
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。																				
自备试剂	样品 DNA																				
使用方法	一、样品 DNA 的制备 1. 如果有 N 个样品，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 PCR 阳性对照（1×10E7 拷贝 / μL，本试剂盒提供）用水稀释 1000 倍后得到的稀释液（1×10E4 拷贝 / μL）10μL 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。 2. 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样品																				

	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（20μL 体系） 3. 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： <table><tr><th>成份</th><th>N+2 个样品管</th><th>PCR 阴性对照</th><th>PCR 阳性对照</th></tr><tr><td>PCR MagicMix 3.0</td><td>各 10μL</td><td>10μL</td><td>10μL</td></tr><tr><td>梅毒螺旋体 PCR 引物混合液</td><td>各 2μL</td><td>2μL</td><td>2μL</td></tr><tr><td>制备的 N+2 个 DNA 样品</td><td>各 8μL</td><td>不加</td><td>不加</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>不加</td><td>8μL</td><td>不加</td></tr><tr><td>第 1 步所得梅毒螺旋体 PCR 阳性对照稀释液（1×10E4 拷贝/μL）</td><td>不加</td><td>不加</td><td>8μL</td></tr></table> 4. 上机进行 PCR，PCR 反应参数为： <table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>5 分钟</td></tr><tr><td rowspan="3">PCR 反应 (30 个循环)</td><td>95℃</td><td>15 秒</td></tr><tr><td>55℃</td><td>30 秒</td></tr><tr><td>72℃</td><td>30 秒</td></tr><tr><td>延伸</td><td>72℃</td><td>10 分钟</td></tr></table> 三、电泳分析 5. 取 10μL 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。 6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 606bp。如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照）有此扩增产物，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。 7. 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。	成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照	PCR MagicMix 3.0	各 10μL	10μL	10μL	梅毒螺旋体 PCR 引物混合液	各 2μL	2μL	2μL	制备的 N+2 个 DNA 样品	各 8μL	不加	不加	超纯水	不加	8μL	不加	第 1 步所得梅毒螺旋体 PCR 阳性对照稀释液（1×10E4 拷贝/μL）	不加	不加	8μL	过程	温度	时间	预变性	95℃	5 分钟	PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 秒	55℃	30 秒	72℃	30 秒	延伸	72℃	10 分钟
成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照																																						
PCR MagicMix 3.0	各 10μL	10μL	10μL																																						
梅毒螺旋体 PCR 引物混合液	各 2μL	2μL	2μL																																						
制备的 N+2 个 DNA 样品	各 8μL	不加	不加																																						
超纯水	不加	8μL	不加																																						
第 1 步所得梅毒螺旋体 PCR 阳性对照稀释液（1×10E4 拷贝/μL）	不加	不加	8μL																																						
过程	温度	时间																																							
预变性	95℃	5 分钟																																							
PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 秒																																							
	55℃	30 秒																																							
	72℃	30 秒																																							
延伸	72℃	10 分钟																																							
关联产品	梅毒螺旋体 PCR 检测试剂盒																																								