

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:13-38100

低温运输，-20°C保存

**BINGENE**

阴道加德纳菌 PCR 试剂盒

*Gardnerella vaginalis* 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：400-6005850；电邮：order@bingene.com

## 产品及特点

阴道加德纳菌 (*Gardnerella vaginalis*, GV) 最初是 1954 年 Gardner 从阴道炎病人的阴道分泌物中分离出来的与非特异性阴道炎相关的致病菌。该菌除引起 BV 以外, GV 还可致早产、产褥热、新生儿败血症、绒毛膜羊膜炎、产后败血症、脓毒血症、尿路感染、肾周脓肿及膀胱炎、宫颈炎, 不洁流产, 术后感染等多种疾病, 是新认识的一种性传播疾病的病原菌和条件致病菌。因此快速灵敏诊断此病原菌具有重要的意义。本试剂盒就是为此目的根据 PCR 原理开发, 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 1000 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, 引物是根据阴道加德纳菌 DNA 高度保守区设计, *in silico* 分析发现它只能检测阴道加德纳菌, 不会跟除此之外的其他生物的 DNA 发生交叉反应。
5. 本产品足够 50 次 20 $\mu$ L 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

本产品使用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装材料
PCR MagicMix 3.0	90805	0.5 mL	0.5mL (本色盖)
超纯水	210806	1 mL	1.5mL (蓝色盖)
阴道加德纳菌 PCR 引物混合液	13-38100yw	100 $\mu$ L	0.5 mL (白色盖)
阴道加德纳菌 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)	13-38100pc	250 $\mu$ L	0.5 mL (黄色盖)

	使用手册	13-38100sc	1份	无																
<b>运输及保存</b>	低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。阳性对照需要单独放置，不要污染其他试剂。																			
<b>自备试剂</b>	样品 DNA。																			
<b>使用方法</b>	<p>一、样品 DNA 的制备</p> <p>1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取，多出的一个是 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用 10uL 试剂盒提供的 PCR 阳性对照（<math>1 \times 10^4</math> 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>）和一定量的水作为核酸制备的阳性对照，两者的总体积应该跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致，直接用水作为核酸制备的阴性对照。</p> <p>2. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数细菌 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的相关产品或免提取核酸释放剂。</p> <p>二、设置 PCR 反应（20 <math>\mu\text{L}</math> 体系）</p> <p>3. 对 N+2 个样品，在 PCR 时需要增加一个 PCR 阳性对照和一个 PCR 阴性对照，故需要设置 N+4 个反应。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分：</p> <table border="1" data-bbox="491 1686 1422 2101"> <thead> <tr> <th data-bbox="497 1695 922 1854">成分</th> <th data-bbox="928 1695 1107 1854">N+2 个 样品管</th> <th data-bbox="1114 1695 1262 1854">PCR 阴性 对照</th> <th data-bbox="1268 1695 1417 1854">PCR 阳性 对照</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="497 1863 922 1937">PCR MagicMix 3.0</td> <td data-bbox="928 1863 1107 1937">各 10 <math>\mu\text{L}</math></td> <td data-bbox="1114 1863 1262 1937">10 <math>\mu\text{L}</math></td> <td data-bbox="1268 1863 1417 1937">10 <math>\mu\text{L}</math></td> </tr> <tr> <td data-bbox="497 1946 922 2020">阴道加德纳菌 PCR 引物混合液</td> <td data-bbox="928 1946 1107 2020">各 2 <math>\mu\text{L}</math></td> <td data-bbox="1114 1946 1262 2020">2 <math>\mu\text{L}</math></td> <td data-bbox="1268 1946 1417 2020">2 <math>\mu\text{L}</math></td> </tr> <tr> <td data-bbox="497 2029 922 2103">N+2 个样品 DNA 模板</td> <td data-bbox="928 2029 1107 2103">各 8 <math>\mu\text{L}</math></td> <td data-bbox="1114 2029 1262 2103">-</td> <td data-bbox="1268 2029 1417 2103">-</td> </tr> </tbody> </table>				成分	N+2 个 样品管	PCR 阴性 对照	PCR 阳性 对照	PCR MagicMix 3.0	各 10 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$	阴道加德纳菌 PCR 引物混合液	各 2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	N+2 个样品 DNA 模板	各 8 $\mu\text{L}$	-	-
成分	N+2 个 样品管	PCR 阴性 对照	PCR 阳性 对照																	
PCR MagicMix 3.0	各 10 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$																	
阴道加德纳菌 PCR 引物混合液	各 2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$																	
N+2 个样品 DNA 模板	各 8 $\mu\text{L}$	-	-																	

样品制备阴性对照 (超纯水)	-	8 $\mu$ L	-
阴道加德纳菌 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)	-	-	8 $\mu$ L

4. 按下表设置 PCR 反应：

过程	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min
PCR 反应 (35 个循环)	95 $^{\circ}$ C	15 sec
	58 $^{\circ}$ C	15 sec
	72 $^{\circ}$ C	60 sec
最后延伸	72 $^{\circ}$ C	10 min

三、电泳检测

- 取 10 $\mu$ L 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 2.5-3%的琼脂糖凝胶。
- 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 900bp。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。
- 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**

阴道加德纳菌可视化 LAMP 扩增试剂盒