

天
净
沙
系
列

CAT#: 13-67810
低温运输, -20℃保存

BINGENE

麻风分枝杆菌 PCR 试剂盒

Mycobacterium leprae 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	麻风分枝杆菌(<i>Mycobacterium leprae</i>), 俗称麻风杆菌, 引起麻风, 是一种慢性传染病, 流行广泛。麻风分枝杆菌的形态、染色与结核分枝杆菌相似。麻风杆菌在病人体内分布比较广泛。全世界约有病例 1200 万, 主要分布在亚、非和拉丁美洲。我国建国前流行较严重, 估计约有 50 万例病人。建国后发病率已大幅度下降, 近 3 年病例已稳定在 2000 例左右。但治愈后有一定复发率(约 3.7%), 因此灵敏快捷地检测麻风分枝杆菌具有重要的意义。本产品就是为满足此需求而开发的、专门检测麻风分枝杆菌的 PCR 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 1000 拷贝/反应。 3. 提供阳性对照, 便于排除假阴性实验。 4. 特异性高, 引物是根据麻风分枝杆菌 DNA 高度保守区设计, <i>in silico</i> 分析发现它只能检测麻风分枝杆菌, 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 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	本产品使用五孔盒包装 <table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装</th></tr><tr><td>2×PCR MasterMix (电泳法)</td><td>990805</td><td>0.5 mL</td><td>0.5 mL 本色管</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>210806</td><td>1 mL</td><td>1.5 mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>麻风分枝杆菌 PCR 引物混合液</td><td>yw13-67810</td><td>100 μL</td><td>0.5 mL 白盖管</td></tr><tr><td>麻风分枝杆菌 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td><td>Pc67810-F M211192.1</td><td>250 μL</td><td>0.5 mL 黄盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-67810cs</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></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	规格	包装	2×PCR MasterMix (电泳法)	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色管	超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管	麻风分枝杆菌 PCR 引物混合液	yw13-67810	100 μL	0.5 mL 白盖管	麻风分枝杆菌 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	Pc67810-F M211192.1	250 μL	0.5 mL 黄盖管	使用手册	13-67810cs	1 份	无
成份	编号	规格	包装																						
2×PCR MasterMix (电泳法)	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色管																						
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管																						
麻风分枝杆菌 PCR 引物混合液	yw13-67810	100 μL	0.5 mL 白盖管																						
麻风分枝杆菌 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	Pc67810-F M211192.1	250 μL	0.5 mL 黄盖管																						
使用手册	13-67810cs	1 份	无																						
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 10uL 本试剂																								

盒提供的 PCR 阳性对照 (1×10^4 拷贝/ μL) 加水作为样本制备的阳性对照, 加水后总体积必须跟样本制备试剂盒所要求的起始样本体积一致。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 (20 μL 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:

成份	N+2 个 样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
2 $\times$ PCR MasterMix (电泳法)	各 10 μL	10 μL	10 μL
麻风分枝杆菌 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
麻风分枝杆菌 PCR 阳性对照 (1×10^4 拷贝/ μL)	不加	不加	8 μL

4. 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 (30 个循环)	95 $^{\circ}\text{C}$	15 秒
	60 $^{\circ}\text{C}$	30 秒
	72 $^{\circ}\text{C}$	30 秒
延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	4 分钟

三、电泳分析

5. 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。
6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 171bp。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。
关联产品	麻风分枝杆菌荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒

20220418lyh