

天
净
沙
系
列

CAT#:13-99047
低温运输, -20℃保存

BINGENE

川贝母 PCR 试剂盒

Bulbus Fritillariae cirrhosaer 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	川贝母 (<i>Fritillariae Cirrhosae</i> Bulbus) 是百合科贝母属的川贝母、甘肃贝母、暗紫贝母、瓦布贝母、梭砂贝母和太白贝母 6 种贝母的干燥鳞茎，有化痰止咳、清热润肺、散结消痈之功效。由于川贝母的药用价值高、疗效显著、市场需求量大，故常有用 5 种其他贝母（如浙贝母、平贝母、伊贝母、湖北贝母等）混充川贝母的现象。目前川贝母鉴别最常用且最准确的方法是由 2015 年版《中国药典》收录的 PCR-RFLP 法。该法需要在 PCR 后进行酶切电泳分析，操作繁琐。因此本公司根据 PCR 原理开发了本产品，它具有下列特点： 1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA。 2. 根据川贝母高度 DNA 保守区域设计引物，能专一性地检测出样品中的川贝母成分，但不能检测其他非川贝母成分。 3. 比 ELISA 更加灵敏。对混合样品中川贝母 DNA 的检测下限为 1000 拷贝/反应。 4. 快速，整个检测过程（按一个样品计）需 2.0 小时左右。 5. 提供阳性标准品，便于分析实验结果。 6. 本产品足够 50 次 20μL 体系的常规 PCR 检测。 7. 本只能用于科研。																				
规格及成分	<table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>五孔盒包装</th></tr><tr><td>PCR MagicMix 3.0</td><td>90805</td><td>0.5 mL（本色管）</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>210806</td><td>1 mL（蓝盖管）</td></tr><tr><td>川贝母 PCR 引物混合液</td><td>yw13-99047</td><td>100 μL（白盖管）</td></tr><tr><td>川贝母 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td><td>pc99047</td><td>250 μL（黄盖管）</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-99047sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成 份	编 号	五孔盒包装	PCR MagicMix 3.0	90805	0.5 mL（本色管）	超纯水	210806	1 mL（蓝盖管）	川贝母 PCR 引物混合液	yw13-99047	100 μL（白盖管）	川贝母 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	pc99047	250 μL（黄盖管）	使用手册	13-99047sc	1 份		
成 份	编 号	五孔盒包装																			
PCR MagicMix 3.0	90805	0.5 mL（本色管）																			
超纯水	210806	1 mL（蓝盖管）																			
川贝母 PCR 引物混合液	yw13-99047	100 μL（白盖管）																			
川贝母 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	pc99047	250 μL（黄盖管）																			
使用手册	13-99047sc	1 份																			
运输及保存	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。																				
自备试剂	样品 DNA。																				
使用方法	一、样品 DNA 的制备 1. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。 2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个提取，包括一个样品制备阳性对照和一个样品制备阴性对照。样品制备阳性对照是在跟试剂盒所要求的样品体积相当的水中（如果试剂盒一次处理需要 200μL 样品，则此处使用 200μ																				

	L 水)，加 10μL 本试剂盒提供的 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL），样品制备阴性对照是直接所需量的水。提取结束后最后得到模板 DNA 放冰上待用。 二、设置 PCR 反应（20μL 体系） 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： <table><tr><th>成分</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 10 μL</td><td>10 μL</td><td>10 μL</td></tr><tr><td>川贝母 PCR 引物混合液</td><td>各 2 μL</td><td>2 μL</td><td>2 μL</td></tr><tr><td>N+2 个样品 DNA 模板</td><td>各 8 μL</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>-</td><td>8 μL</td><td>-</td></tr><tr><td>川贝母 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）</td><td>-</td><td>-</td><td>8 μL</td></tr></table> 4. 按下表设置 PCR 反应： <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 min</td></tr><tr><td rowspan="3">PCR 反应 (35 个循环)</td><td>95℃</td><td>45 sec</td></tr><tr><td>54℃</td><td>45 sec</td></tr><tr><td>72℃</td><td>30 sec</td></tr><tr><td>最后延伸</td><td>72℃</td><td>10 min</td></tr></table> 三、电泳检测 5. 取 10uL 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%的琼脂糖凝胶。 6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 230bp。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。	成分	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	川贝母 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL	N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-	超纯水	-	8 μL	-	川贝母 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	8 μL	过程	温度	时间	预变性	95℃	5 min	PCR 反应 (35 个循环)	95℃	45 sec	54℃	45 sec	72℃	30 sec	最后延伸	72℃	10 min
成分	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																																						
川贝母 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL																																						
N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-																																						
超纯水	-	8 μL	-																																						
川贝母 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	8 μL																																						
过程	温度	时间																																							
预变性	95℃	5 min																																							
PCR 反应 (35 个循环)	95℃	45 sec																																							
	54℃	45 sec																																							
	72℃	30 sec																																							
最后延伸	72℃	10 min																																							
关联产品	川贝母荧光及可视化 LAMP 扩增试剂盒																																								