

天
净
沙
系
列

CAT#:16-14400
低温运输, -20℃保存

BINGENE

疏螺旋体荧光及可视化 LAMP 试剂盒

Borrelia spp. Fluorescent and Colorimetric LAMP Kit

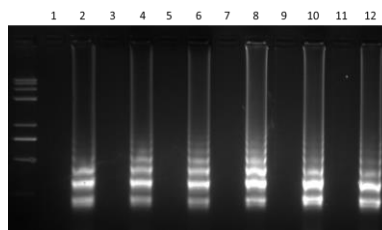
使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

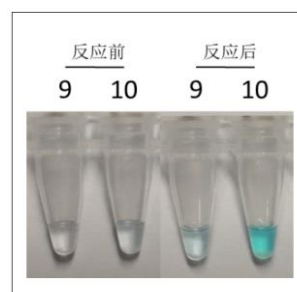
网址: www.bingene.com; 电话: 400-6605850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	疏螺旋体 (<i>Borrelia spp.</i>) 是一类细长、柔软、弯曲呈螺旋状的运动活泼的单细胞原核生物。全长 3~500 微米, 具有细菌细胞的所有内部结构。由核区和细胞质构成原生质圆柱体, 柱体外缠绕着一根或多根轴丝。它包括能使人类感染的、经虱传布的回归热螺旋体和经蜱传布的杜通氏螺旋体。感染后常以反复发热和缓解为特征, 因而临床称回归热。还包括对畜、禽致病的鹅螺旋体和泰氏螺旋体, 均可由蜱传布。前者感染鹅、鸡和鸭, 致败血症, 死亡率很高。后者感染牛、羊和马, 引起周期性发热。由于疏螺旋体严重危害人和动物的健康, 因此灵敏快捷地检测疏螺旋体具有重要的意义。为此本公司根据双染料 LAMP 技术, 开发了简单快捷的疏螺旋体 LAMP 检测试剂盒, 它具有下列特点: 1. 即开即用, 用户只需要提供 DNA 样品。 2. 含可见光和荧光染料, 双重结果判读。既可以肉眼判断结果, 也可用荧光 PCR 仪进行实时荧光检测 (但不一定能定量)。 3. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上, 一般可达到 100 拷贝/反应。 4. 特异性高, 根据疏螺旋体保守序列设计 4 条特异引物, 不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。 5. 一般 30 分钟内出结果, 比 PCR 快。 6. 上样量大, 对 20 μL 的反应体系, 最大模板 DNA 加样量可达 14 μL。 7. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。 8. 提供无传染性的阳性对照, 便于分析实验结果。 9. 本产品只能用于定性分析, 不推荐用于定量分析。 10. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的荧光及可视化 LAMP 扩增。 11. 只可用于科研。																												
规格及成分	本产品采用 5 孔盒包装 <table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>4×LAMP MagicMix (可视化染料-荧光染料双染料法, 待加酶)</td><td>211223a</td><td>250μL</td><td>0.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>Bst DNA 聚合酶 2.0</td><td>11-220319</td><td>50μL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>20×疏螺旋体 LAMP 引物混合液</td><td>yw16-14400</td><td>200μL</td><td>0.5mL 白盖管</td></tr><tr><td>疏螺旋体 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td><td>Pc14400-</td><td>250μL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>210806</td><td>1mL</td><td>1.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>16-14400sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table>	成份	编号	规格	包装材料	4×LAMP MagicMix (可视化染料-荧光染料双染料法, 待加酶)	211223a	250μL	0.5mL 绿盖管	Bst DNA 聚合酶 2.0	11-220319	50μL	0.5mL 红盖管	20×疏螺旋体 LAMP 引物混合液	yw16-14400	200μL	0.5mL 白盖管	疏螺旋体 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	Pc14400-	250μL	0.5mL 黄盖管	超纯水	210806	1mL	1.5mL 蓝盖管	使用手册	16-14400sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料																										
4×LAMP MagicMix (可视化染料-荧光染料双染料法, 待加酶)	211223a	250μL	0.5mL 绿盖管																										
Bst DNA 聚合酶 2.0	11-220319	50μL	0.5mL 红盖管																										
20×疏螺旋体 LAMP 引物混合液	yw16-14400	200μL	0.5mL 白盖管																										
疏螺旋体 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	Pc14400-	250μL	0.5mL 黄盖管																										
超纯水	210806	1mL	1.5mL 蓝盖管																										
使用手册	16-14400sc	1 份	无																										
运输及保存	低温运输, -20℃保存, 保存期限为一年。																												

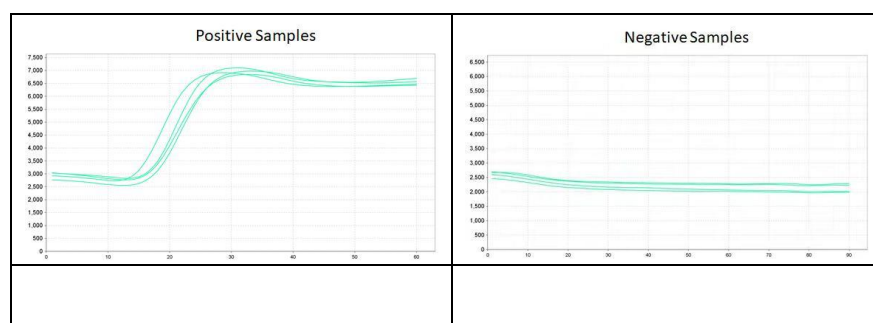
自备试剂	待测样品。																								
使用方法	一、样品 DNA 的制备 1. 用自选方法纯化样品 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容，包括本公司的核酸纯化试剂盒和免提取的核酸释放剂。 2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个样品制备，包括一个样品制备阳性对照（PC）和一个样品制备阴性对照（NC）。PC 用 10μL 本试剂盒提供的阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）和一定量的水替代，两者的体积跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样品体积一样，NC 用水替代。 二、LAMP 反应（20μL 体系） 3. 反应设置：如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则最好设置 N+4 个 LAMP 扩增，增加 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照各 1 个。第一次使用本试剂盒的时候，需要将所有 Bst DNA 聚合酶 2.0 全部加入到 4×LAMP MagicMix（可视化染料-荧光染料双染料法，待加酶）中，轻柔颠倒混匀 1 分钟。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分： <table><tr><th>成分</th><th>N+2 个样品管</th><th>LAMP 阴性对照</th><th>LAMP 阳性对照</th></tr><tr><td>4×LAMP MagicMix（可视化染料-荧光染料双染料法，加酶后）</td><td>各 5 μL</td><td>5 μL</td><td>5 μL</td></tr><tr><td>20×疏螺旋体 LAMP 引物混合液</td><td>各 1 μL</td><td>1 μL</td><td>1 μL</td></tr><tr><td>N+2 个样品 DNA</td><td>各 14 μL</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td>疏螺旋体 LAMP 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）</td><td>-</td><td>-</td><td>1-14 μL</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>-</td><td>14 μL</td><td>补水到 20 μL</td></tr></table> 4. 本产品含两种染料，故最好使用荧光 PCR 仪器进行扩增。设置 60 次循环，每次 65℃保温 1 分钟，采集 SYBR 通道的荧光信号。 三、结果分析 5. 电泳分析（强烈建议不要采取此方法）：由于取样时非常容易产生气溶胶污染，污染实验环境并且非常难清除污染，所以分析实验结果。即使使用，也要在不同的房间，使用不同的移液枪操作。具体做法是取 10μL LAMP 扩增产物跟自备上样液混合后进行 2%琼脂糖凝胶电泳。LAMP 阳性对照必须有正常 LAMP 条带（200bp 左右的梯形扩增产物），LAMP 阴性结果必须无条带，否则实验结果无效。如果 LAMP 阳性对照和阴性对照结果正常，再分析待测样品。典型的电泳结果见下表，奇数样为阴性结果，偶数样为阳性结果：	成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照	4×LAMP MagicMix（可视化染料-荧光染料双染料法，加酶后）	各 5 μL	5 μL	5 μL	20×疏螺旋体 LAMP 引物混合液	各 1 μL	1 μL	1 μL	N+2 个样品 DNA	各 14 μL	-	-	疏螺旋体 LAMP 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	1-14 μL	超纯水	-	14 μL	补水到 20 μL
成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照																						
4×LAMP MagicMix（可视化染料-荧光染料双染料法，加酶后）	各 5 μL	5 μL	5 μL																						
20×疏螺旋体 LAMP 引物混合液	各 1 μL	1 μL	1 μL																						
N+2 个样品 DNA	各 14 μL	-	-																						
疏螺旋体 LAMP 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	1-14 μL																						
超纯水	-	14 μL	补水到 20 μL																						



6. 可将光（肉眼）分析：样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的反应液将呈蓝色，样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的反应液将呈淡蓝色或无色，否则提取实验或扩增实验无效，请跟厂家联系。如果阳性和阴性对照结果正常，则实验有效，可以分析样品的情况。样品管的颜色接近扩增阳性对照管则说明样品为阳性，如果接近阴性对照则说明待测样品为阴性。典型的可将光检测结果见左图（9 为阴性，10 为阳性）。



7. 荧光分析（推荐使用）：样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的扩增曲线将有标准的 S 扩增曲线，样品制备阴性对照和 LAMP 阴性对照的扩增曲线将为平线，没有 S 曲线，否则提取实验或扩增实验无效，请跟厂家联系。如果阳性和阴性对照结果正常，则实验有效，可以分析样品的情况。样品管的荧光曲线为 S 型，则说明样品为阳性，如果为平线则说明待测样品为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性，右边为阴性。



关联产品

疏螺旋体荧光定量 PCR 试剂盒