天
净
沙
系
列

CAT#:13-67700

低温运输，-20℃保存

BINGENE

分枝杆菌属通用 PCR 试剂盒

Mycobacterium spp. PCR Kit

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

江苏张家港保税区科创 A 栋 2 楼

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

<p>产品及特点</p>	<p>分枝杆菌属 (<i>Mycobacterium</i> spp.) 是一类细长略弯曲的, 有时有分枝或出现丝状体。本属细菌的主要特点是细胞壁含有大量脂质, 主要是分枝菌酸这及其染色性、生长特性、致病性、抵抗力等密切相关。一般不易着色, 若经加温或延长染色时间而着色后能抵抗强脱色剂盐酸乙醇的脱色, 故又称抗酸杆菌。该菌属无鞭毛、无芽胞、不产生内、外毒素, 其致病性和菌体成分有关。引起的疾病都呈慢性, 并伴有肉芽肿。分枝杆菌种类较多, 对人致病的主要有结核分枝杆菌和麻风分枝杆菌。因此快速灵敏检测分枝杆菌具有重要意义。本产品就是为此目的根据 PCR 原理开发的试剂盒, 它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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, 分析灵敏度高。 3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。 4. 特异性高, 引物是根据分枝杆菌属 DNA 高度保守区设计, 不会跟除此之外的其它 DNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 体系的 PCR 反应。 6. 本产品只能用于定性实验, 不能用于定量。 7. 本产品只能用于科研。 																				
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="464 1189 1466 1581"> <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>分枝杆菌属 PCR 引物混合液</td> <td>yw13-67700</td> <td>100μL (白盖)</td> </tr> <tr> <td>分枝杆菌属 PCR 阳性对照 (1$\times$10E7 拷贝/μL)</td> <td>pc67700</td> <td>50μL (黄盖)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-67700sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>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。</p>			成 份	编 号	五孔盒包装	PCR MagicMix 3.0	90805	500 μ L (红盖)	超纯水	100935	1mL (紫盖)	分枝杆菌属 PCR 引物混合液	yw13-67700	100 μ L (白盖)	分枝杆菌属 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E7 拷贝/ μ L)	pc67700	50 μ L (黄盖)	使用手册	13-67700sc	1 份
成 份	编 号	五孔盒包装																			
PCR MagicMix 3.0	90805	500 μ L (红盖)																			
超纯水	100935	1mL (紫盖)																			
分枝杆菌属 PCR 引物混合液	yw13-67700	100 μ L (白盖)																			
分枝杆菌属 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E7 拷贝/ μ L)	pc67700	50 μ L (黄盖)																			
使用手册	13-67700sc	1 份																			
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输, -20°C 保存, 保存期限为 12 个月。</p>																				
<p>自备试剂</p>	<p>样品 DNA</p>																				
<p>使用方法</p>	<p>一、样品 DNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 10μL 分枝 																				

杆菌属 PCR 阳性对照 (1×10^7 拷贝/ μL , 本试剂盒提供) 再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一样, 样品体积多少取决于所用试剂盒的要求)。可以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 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选用本公司的核酸提取试剂盒或免提取核酸释放剂。

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
PCR MagicMix 3.0	各 10 μL	10 μL	10 μL
分枝杆菌属 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
分枝杆菌属 PCR 阳性对照的 10 倍稀释液	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 min
PCR 反应 (35 个循环)	95 $^{\circ}\text{C}$	15 sec
	57 $^{\circ}\text{C}$	15 sec
	72 $^{\circ}\text{C}$	40 sec
最后延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	10 min

三、电泳分析

5. 取 5 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. 如果两个阴性对照 (样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照) 有扩增产物, 说明环境污染, 则整个实验无效, 不需要分析实验结果。
7. 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。
8. 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	分枝杆菌属 PCR 试剂盒