



大肠杆菌 O104:H4 型探针法 LAMP 试剂盒

Escherichia coli O104:H4 Probe LAMP Kit

仅
供
科
研
使
用

大肠杆菌 O104:H4 型 (Escherichia coli O104:H4) 是肠出血性 (Enterohemorrhagic) 大肠杆菌的一个菌株，但它有部分肠聚集性大肠杆菌 (Enteropathogenic) 基因。该菌株导致了 2011 年 O104:H4 型大肠杆菌疫情，它分泌的毒素可损伤肠道黏膜，甚至进入血液中破坏红血球，导致溶血性病变，这种症状在肾脏中明显，常导致急性肾衰竭，即为溶血性尿毒综合症，因此对大肠杆菌 O104:H4 型的快速准确鉴定具有重要意义。为此本公司根据独有的探针法 LAMP 技术，开发了简单快捷的大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 检测试剂盒，**它具有下列特点：**

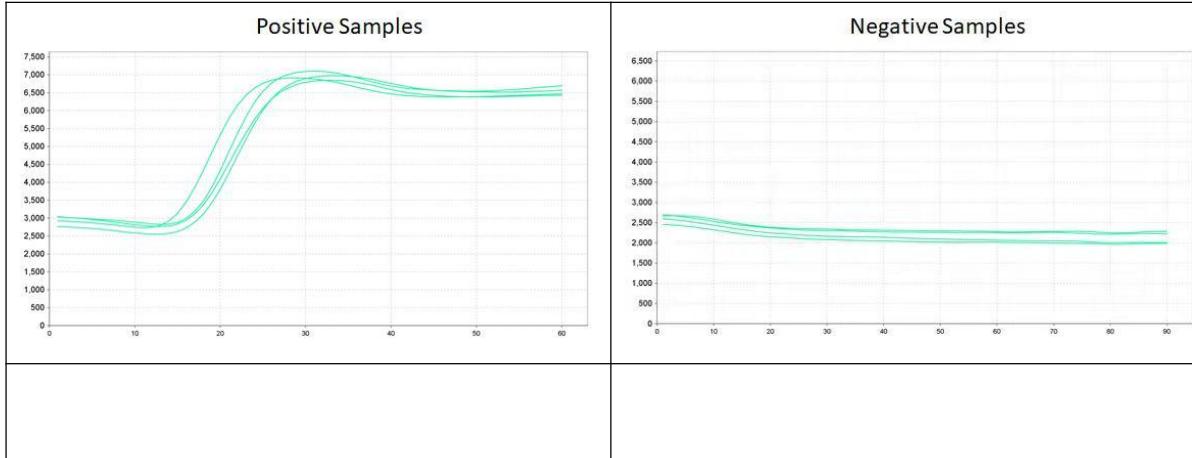
1. 即开即用，用户只需要提供 DNA 样品。
2. 恒温扩增，简单快捷。
3. 含荧光探针，扩增的专一性比染料法和电泳法更强。
4. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。
5. 一般 30 分钟内出结果，比 PCR 快。
6. 引物根据大肠杆菌 O104:H4 型基因组的保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。
7. 上样量大，对 20 μL 的反应体系，样品加样量高达到 14 μL 。
8. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。
9. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。
10. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。
11. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 LAMP 扩增。
12. 只可用于科研。

产品及特点

规格及成分

成分	规格	包装
4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶)	200 μL	0.5mL 绿盖管
Bst DNA 聚合酶 2.0	50 μL	0.5mL 红盖管
20×大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 引物-探针混合液干粉	50 次	0.5mL 白盖管
大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/ μL)	250 μL	0.5mL 黄盖管
超纯水	1mL	1.5mL 蓝盖管
使用手册	1 份	无
注意： 使用前请在 20×大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 引物-探针混合液干粉中加入 55 μL 超纯水		

	<p>水， 涡旋震荡半分钟溶解。没用完的需要放-20°C保存。</p> <p>本产品采用 5 孔盒包装</p>																								
一、样品 DNA 的制备																									
<p>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，包括本公司的免提取的核酸释放剂。</p> <p>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) 加一定量的水作为样品制备 PC，加水后的总体积跟所用核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。NC 用水替代。。</p>																									
二、LAMP 反应 (20μL 体系)																									
<p>3. 反应设置：第一次使用时请把所有 Bst DNA 聚合酶 2.0 (50μL, 本试剂盒提供) 加入到 4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶) 中，轻柔颠倒 20 次充分混匀，然后再取用。如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则设置 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。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分：</p>																									
<table border="1"> <thead> <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> </thead> <tbody> <tr> <td>4×LAMP MagicMix (探针法，加酶后)</td> <td>各 5μL</td> <td>5μL</td> <td>各 5μL</td> </tr> <tr> <td>20×大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 引物-探针混合液</td> <td>各 1μL</td> <td>1μL</td> <td>1μL</td> </tr> <tr> <td>N+2 个样品 DNA</td> <td>各 14μL</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>-</td> <td>14μL</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>14μL</td> </tr> </tbody> </table>		成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照	4×LAMP MagicMix (探针法，加酶后)	各 5μL	5μL	各 5μL	20×大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 引物-探针混合液	各 1μL	1μL	1μL	N+2 个样品 DNA	各 14μL	-	-	超纯水	-	14μL	-	大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	-	-	14μL
成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照																						
4×LAMP MagicMix (探针法，加酶后)	各 5μL	5μL	各 5μL																						
20×大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 引物-探针混合液	各 1μL	1μL	1μL																						
N+2 个样品 DNA	各 14μL	-	-																						
超纯水	-	14μL	-																						
大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	-	-	14μL																						
<p>4. 置于荧光定量 PCR 仪中 65°C 保温 60 分钟进行扩增，每分钟在 FAM 通道采集一次荧光信号。</p>																									
三、结果分析																									
<p>5. 样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的反应液将有标准的 S 扩增曲线，样品制备阴性对照和</p>																									

	<p>LAMP 阴性对照的反应液将没呈平线, 没有 S 曲线, 否则提取实验或扩增实验无效。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。</p> 
PCR 编号	TW-E10283
说明书	1 份
自备试剂	待测样品
运输及保存	低温运输, -20°C 保存, 有效期 1 年

生产企业: 上海通蔚实业有限公司

公司地址: 上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603

公司电话: 021-54845833

技术支持: 15800441009

上海通扇