



# 大肠杆菌探针法 LAMP 试剂盒

Escherichia coli Probe LAMP Kit

仅  
供  
科  
研  
使  
用

<b>产品及特点</b>	<p>大肠杆菌 (Escherichia coli, E. coli) 为埃希氏菌属 (Escherichia) 代表菌。一般多不致病，为人和动物肠道中的常居菌，在一定条件下可引起肠道外感染。但某些血清型菌株的致病性强，引起腹泻，统称致病性大肠杆菌，又叫致泻性大肠杆菌，根据致病性的不同，这些致泻性大肠埃希菌被分为五种。检测致病性和非致病性大肠杆菌是食品行业（包括饮用水）的一个重要的安全指标，因此对致病性和非致病性大肠杆菌的快速准确鉴定有重要作用，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 LAMP 检测试剂盒，<b>它具有下列特点：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 即开即用，用户只需要提供 DNA 样品。</li> <li>2. 恒温扩增，简单快捷。</li> <li>3. 含荧光探针，扩增的专一性比染料法和电泳法更强。</li> <li>4. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。</li> <li>5. 一般 30 分钟内出结果，比 PCR 快。</li> <li>6. 上样量大，对 20 <math>\mu</math>L 的反应体系，样品加样量高达到 14 <math>\mu</math>L。</li> <li>7. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。</li> <li>8. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。</li> <li>9. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。</li> <li>10. 本产品足够 50 次 20 <math>\mu</math>L 体系的探针法 LAMP 扩增。</li> <li>11. 只可用于科研。</li> </ol>																					
<b>规格及成分</b>	<table border="1" data-bbox="355 1431 1565 1826"> <thead> <tr> <th>成分</th><th>规格</th><th>包装</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶)</td><td>200<math>\mu</math>L</td><td>0.5mL 绿盖管</td></tr> <tr> <td>Bst DNA 聚合酶 2.0</td><td>50<math>\mu</math>L</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr> <tr> <td>20×大肠杆菌 LAMP 引物-探针干粉</td><td>50 次</td><td>0.5mL 棕色管</td></tr> <tr> <td>大肠杆菌 LAMP 阳性对照 (1E4 拷贝/<math>\mu</math>L)</td><td>250<math>\mu</math>L</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr> <tr> <td>超纯水</td><td>1mL</td><td>1.5mL 蓝盖管</td></tr> <tr> <td>使用手册</td><td>1 份</td><td>无</td></tr> </tbody> </table> <p data-bbox="812 1795 1095 1826">本产品采用 5 孔盒包装</p> <p data-bbox="372 1837 1535 1911"><b>注 意：</b>引物干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 110 <math>\mu</math>L 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20°C 保存。</p>	成分	规格	包装	4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶)	200 $\mu$ L	0.5mL 绿盖管	Bst DNA 聚合酶 2.0	50 $\mu$ L	0.5mL 红盖管	20×大肠杆菌 LAMP 引物-探针干粉	50 次	0.5mL 棕色管	大肠杆菌 LAMP 阳性对照 (1E4 拷贝/ $\mu$ L)	250 $\mu$ L	0.5mL 黄盖管	超纯水	1mL	1.5mL 蓝盖管	使用手册	1 份	无
成分	规格	包装																				
4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶)	200 $\mu$ L	0.5mL 绿盖管																				
Bst DNA 聚合酶 2.0	50 $\mu$ L	0.5mL 红盖管																				
20×大肠杆菌 LAMP 引物-探针干粉	50 次	0.5mL 棕色管																				
大肠杆菌 LAMP 阳性对照 (1E4 拷贝/ $\mu$ L)	250 $\mu$ L	0.5mL 黄盖管																				
超纯水	1mL	1.5mL 蓝盖管																				
使用手册	1 份	无																				

**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 10  $\mu$ L 本试剂盒提供的阳性对照 (1E4 拷贝/ $\mu$ L) 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。

**二、LAMP 反应 (20 $\mu$ L 体系)**

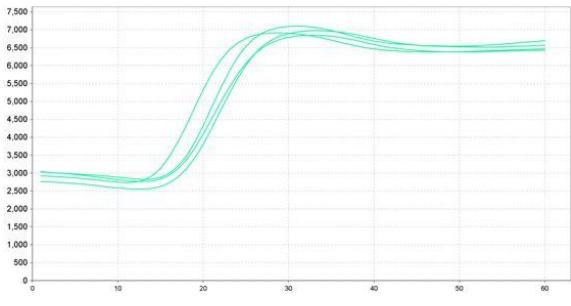
3. 反应设置：第一次使用时请把所有 Bst DNA 聚合酶 2.0 (50 $\mu$ L, 本试剂盒提供) 加入到 4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶) 中，轻柔颠倒 20 次充分混匀，然后再取用。如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则设置 N+4 个 LAMP 扩增，增加 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照各 1 个。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分：

成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4×LAMP MasterMix (探针法，加酶后)	各 5 $\mu$ L	5 $\mu$ L	各 5 $\mu$ L
20×大肠杆菌 LAMP 引物-探针混合液	各 2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L
N+2 个样品 DNA	各 13 $\mu$ L	-	-
超纯水	-	13 $\mu$ L	-
第 2 步所得阳性的 10 倍稀释液	-	-	13 $\mu$ L

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 Cy5 通道采集一次荧光信号。

**三、结果分析**

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 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>Positive Samples</p> 	<p>Negative Samples</p>
<b>PCR 编号</b>	TW-E10284	
<b>说明书</b>	1 份	
<b>自备试剂</b>	待测样品	
<b>运输及保存</b>	低温运输, -20°C保存, 有效期 2 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**