

大肠杆菌 O104:H4 型探针法 LAMP 试剂盒

Escherichia coli O104:H4 Probe LAMP Kit

目录号: [ml107932](#)

使 用 说 明 书

产品及特点

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 (Enteraggregative) 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 μ L 的反应体系，样品加样量高达 14 μ L。
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 μ L 体系的探针法 LAMP 扩增。
12. 只可用于科研。

规格及成分

成分	规格	包装
4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）	200 μ L	0.5mL 绿盖管
Bst DNA 聚合酶 2.0	50 μ L	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/ μ L)	250 μ L	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 μ L 超纯水，涡旋震荡半分钟溶解。没用完的需要放-20℃保存。		
本产品采购 5 孔盒包装		

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 μ L 本试剂盒提供的阳性对照（1 $\times$ 10E4 拷贝/ μ 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 μ 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 μ L, 本试剂盒提供) 加入到 4 $\times$ 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。

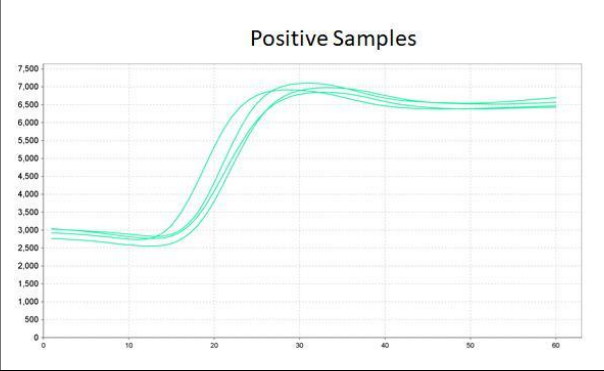
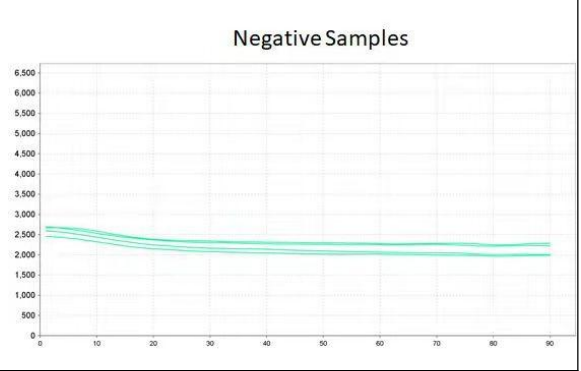
在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分:

成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4 $\times$ LAMP MagicMix (探针法, 加酶后)	各 5 μ L	5 μ L	5 μ L
20 $\times$ 大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 引物-探针混合液	各 1 μ L	1 μ L	1 μ L
N+2 个样品 DNA	各 14 μ L	-	-
超纯水	-	14 μ L	-
大肠杆菌 O104:H4 型 LAMP 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ μ L)	-	-	14 μ L

4. 置于荧光定量 PCR 仪中 65 $^{\circ}$ 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。

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。  
自备试剂	待测样品。
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。