天净沙系列

CAT#:20-18810

低温运输，-20℃保存

天净沙

无乳链球菌探针法 LAMP 试剂盒（含内参）

Streptococcus agalactiae Probe LAMP Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

无乳链球菌（*Streptococcus agalactiae*）是一种革兰氏阳性链球菌，因最先从患乳腺炎的牛中分离而得名。随后在各国孕产妇和新生儿中分离到，可引起新生儿早发和晚发型感染。该菌也被发现于各种畜牧及水产鱼类的流行病中，因此受到广泛关注。该菌能导致动物体产生败血症和脑膜炎，且具有较高的致死率，对人类健康造成严重威胁，因此对无乳链球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 LMAP 技术，开发了简单快捷的无乳链球菌 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. 含内参，便于排除假阴性结果。
5. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。
6. 一般 30 分钟内出结果，比 PCR 快。
7. 上样量大，对 20 μL 的反应体系，最大样品加样量高达到 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。

规格及成分

本产品采购五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）	211223a	200 μL	0.5 mL 绿盖管
Bst DNA 聚合酶 2.0	220319	50 μL	0.5 mL 红盖管
20×无乳链球菌 LAMP 引物-探针干粉（含内参引物探针）	yp20-18810	50 次	0.5 mL 棕色管
无乳链球菌 LAMP 阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	pc18810	250 μL	0.5 mL 黄盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	20-18810sc	1 份	无

注意：引物干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 110 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

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 μL 本试剂盒提供的阳性对照（1E4 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。

二、LAMP 反应（20 μL 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 μL，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。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 μL	5 μL	5 μL
20×无乳链球菌 LAMP 引物-探针混合液(含内参引物探针)	各 2 μL	2 μL	2 μL
N+2 个样品 DNA	各 13 μL	-	-
超纯水	-	13 μL	-
第 2 步所得阳性对照的 10 倍稀释液	-	-	13 μL

4. 本产品含两种探针，故在设置荧光 PCR 仪时，设置 60 次循环，每次 65℃保温 1 分钟，采集 FAM 和 CY5 两个通道的荧光信号。FAM 是样本探针的荧光标记，CY5 是内参探针的荧光标记，淬灭基团均是 TAMRA。

三、结果分析

5. 判断实验有效性：扩增阴性对照必须没有 FAM 信号的扩增（扩增是指 Ct 在 40 以内，荧光信号呈现标准的 S 型扩增曲线。任何一个不满足此两个条件，均判读为无扩增。下同），扩增阳性对照必须有 FAM 信号的扩增，否则整个实验无效，需要分析原因。扩增阴性对照如果有扩增，表示实验试剂或环境有模板 DNA 的污染。扩增阳性对照没有 FAM 信号的扩增表示试剂盒或扩增设备或操作有问题，需要分别排查。找到原因并解决问题后方可重启实验。
6. 如果实验有效，则可以分析 N+2 个样品的情况。情况 1：FAM 信号有扩增，则此样

	品应判为阳性，不论 CY5 信号有无扩增。情况 2：FAM 信号无扩增，但 CY5 信号有扩增，则此样品应判为阴性；情况 3：FAM 信号和 CY5 信号均无扩增，此样品应判为假阴性（可能原因之一是此样品中有抑制物，也可能核酸在纯化过程中丢失）。此样品需要稀释不同倍数后再测或/和重新进行核酸制备。
关联产品	无乳链球菌荧光定量 PCR 试剂盒

20251016ztl