天净沙系列

CAT#:19-29420

低温运输，-20℃保存

天净沙

鼠疫耶尔森菌(鼠疫杆菌)探针法 LAMP 试剂盒（不含内参）

Yersinia pestis Probe LAMP Kit

使用手册 V0.51

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

本公司根据独有的探针法 LMAP 技术，开发了简单快捷的鼠疫耶尔森菌(鼠疫杆菌)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. 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. 上样量大，对 20 μL 的反应体系，最大样品加样量高达到 14 μL。
7. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。
8. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。
9. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。
10. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 LAMP 扩增。
11. 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×鼠疫耶尔森菌 LAMP 引物-探针干粉	yp19-29420	50 次	0.5 mL 棕色管
鼠疫耶尔森菌 LAMP 阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	pc29420	250 μL	0.5 mL 黄盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	19-29420sc	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）

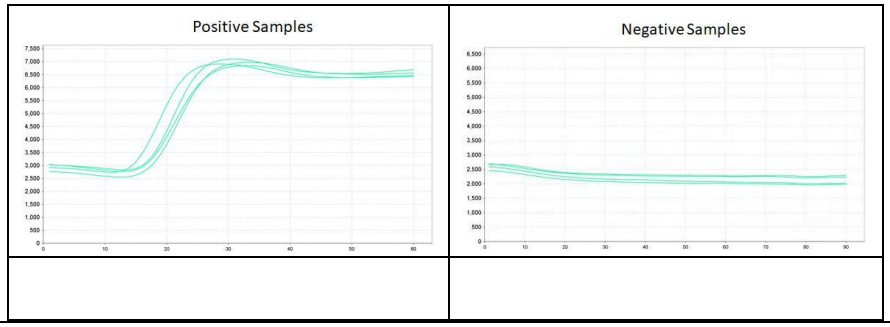
3. 反应设置：第一次使用时请把所有 Bst DNA 聚合酶 2.0（50 μL，本试剂盒提供）加入到 4×LAMP MasterMix（探针法，待加酶）中，轻柔颠倒 20 次充分混匀，然后再取用。如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则最好设置 N+4 个 LAMP 扩增，增加 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照各 1 个。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分：

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×鼠疫耶尔森菌 LAMP 引物-探针混合液	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. 置于荧光定量 PCR 仪中 65℃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。



关联产品	鼠疫耶尔森菌(鼠疫杆菌)荧光定量 PCR 试剂盒