

鹦鹉热嗜衣原体探针法 LAMP 试剂盒

Chlamydophila psittaci Probe LAMP Kit (with Internal Control)

目录号: [ml107956](#)

使 用 说 明 书

产品及特点

鹦鹉热嗜衣原体(Chlamydophila psittaci)是衣原体科嗜衣原体属成员之一，是一种多宿主、人畜共患的病原微生物，能感染包括人在内的灵长类动物、家养和野生哺乳动物、禽类及两栖动物。鹦鹉热嗜衣原体感染家禽、宠物鸟和野鸟后，引起肺炎、呼吸困难等症状，严重的可导致死亡，有的还能呈隐性感染状态。家畜（包括猪、牛、兔和羊等）感染后主要表现流产、肺炎、肠炎、多关节炎、尿道炎等多症候群疾病。近年发现鹦鹉热嗜衣原体还可感染马属动物，引起流产、呼吸道等疾病。人亦可感染而引起为肺炎、败血症和流产等，病畜禽和带毒动物是本病的主要传染源，因此快速检测鹦鹉热嗜衣原体具有重要的意义。本公司根据独自开发的探针法 LMAP 技术，开发了简单快捷的鹦鹉热嗜衣原体探针法 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，反应设置更加简单。
3. 含荧光探针，可以对扩增进行实时荧光检测（需要荧光 PCR 仪）。
4. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。
5. 特异性高，根据鸚鵡热嗜衣原体保守序列设计的 4 条特异引物和 1 条探针，不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。
6. 一般 630 分钟内出结果，比 PCR 快。
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. 提供内参，便于排除假阴性结果。
11. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。
12. 本产品足够 50 次 20 μ L 体系的探针法 LAMP 扩增。
13. 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×鸚鵡热嗜衣原体探针法 LAMP 引物-探针混合液	50 次	0.5mL 棕色管
鸚鵡热嗜衣原体 LAMP 阳性对照 (1×10E4 拷贝/ μ L)	250 μ L	0.5mL 黄盖管
鸚鵡热嗜衣原体 LAMP 内参对照 (1×10E4 拷贝/ μ L)	250 μ L	0.5mL 紫盖管
使用手册	1 份	无

本产品采用五孔盒包装

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 55 μ L 的超纯水充分混匀后再使

用，未用完的需要-20°C保存。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

7. 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。

8. 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 本试剂盒提供的样品阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L) 和 10 μ L 内参阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L) 加一定量的水作为核酸提取阳性对照样品，加水后的总体积必须跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。NC 用 10 μ L 本试剂盒提供的 10 μ L 内参阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L) 加一定量的水充当，加水后的总体积必须跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。

二、探针法 LAMP 反应 (20 μ L 体系)

3. 反应设置：如果有 N+2 个 DNA 纯化样品，则设置 N+4 个 LAMP 扩增，增加的两个反应分别是 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照。首次使用本试剂盒时，需要将 Bst DNA 聚合酶 2.0 全部加入到 4 \times LAMP MasterMix (探针法) 中，轻柔颠倒混匀 1 分钟后再使用。未用完的部分需要放-20°C保存。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分：

成分	样品管 N+2 个	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4 \times LAMP MasterMix (探针法, 加酶后)	各 5 μ L	5 μ L	5 μ L
20 \times 鸚鵡热嗜衣原体 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	-
鸚鵡热嗜衣原体 LAMP 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)			3.5 μ L

	鸚鵡熱嗜衣原体 LAMP 內參對照 (1×10E4 拷貝/μL)	-	-	3.5μL
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。			

4. 如果使用荧光定量 PCR 仪，则设置 60 次循环，每次 65℃保温 1 分钟，采集 FAM 通道和 HEX 通道的荧光信号。

四、结果分析

5. 实验有效性的判断：样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的 FAM 信号（对应样本）和 HEX 信号（对应内参）必须有标准的 S 扩增曲线，样品制备阴性对照的 HEX 信号（对应内参）必须有标准的 S 扩增曲线，LAMP 阴性对照的 FAM 信号和 HEX 信号必须呈现一条平线，没有 S 曲线，否则提取实验或扩增实验无效。如果上述阳性对照和阴性对照结果正常，则实验有效，可以分析样品的情况。

6. 待测样品的结果判断：在实验有效的情况下，才有必要分析代测样品管的荧光信号。如果其 FAM 荧光信号曲线为 S 型（无论 HEX 信号如何），则说明样品为阳性。如果 FAM 荧光信号为平线则说明待测样品为阴性。如果 HEX 荧光信号为 S 曲线，说明代测样品（FAM 曲线）为真阴性。如果 HEX 荧光信号也是平线，说明此样品可能是假阴性，此样品需要重复测试。