



荧光定量PCR淋球菌（NG）检测试剂盒

PCR-Fluorescence Diagnostic Kit for *Neisseria gonorrhoeae*
使用说明书

【前言】

本试剂盒采用聚合酶链式反应（PCR）结合Taqman荧光探针技术对分泌物拭子中的淋球菌（*Neisseria gonorrhoeae*）的特异性DNA核酸片段进行检测，本品对NG的检测灵敏度为10个病原体/ml。（供研究使用）。

【规格】 20 人份，-20℃保存，有效期6个月

【试剂盒组成】

1	核酸提取液	600ul	5	阴性对照(NG)	10ul
			6	NG定量阳性对照1号 1.0×10^6 copy/ml	10ul
3	NGPCR反应液	480 μ l	7	NG定量阳性对照2号 1.0×10^5 copy/ml	10ul
4	混合酶	40 μ l	8	NG定量阳性对照3号 1.0×10^4 copy/ml	10ul

【适用仪器】

本试剂盒适用于PE5700、7700、LightCycler、FTC-2000等荧光PCR仪。

【样本采集和处理】

生殖泌尿道拭子的采集方法为：高压灭菌的特制棉拭子，伸入男性尿道口或女性宫颈口上1-2厘米，旋转一周，停留约10秒钟后取出，将棉拭子头放入盛有1毫升无菌生理盐水的样本冷冻保存管中，从颈部剪断拭子，使拭子头浸入盐水中，反复漂洗。（漂洗液在-20℃保存，长期在-70℃保存）

标本漂洗液(试剂盒中的阳性对照、阴性对照可以不要处理，直接使用)的处理方法为：各取200 μ l（冻存标本使用前在室温溶解，旋涡振荡10秒），15,000rpm离心10分钟，用移液器吸弃上清，保留沉淀。在上述离心沉淀中加入30 μ l 核酸提取液，振荡器上振荡10秒后100℃沸水浴10分钟后，15,000rpm离心10分钟，取上清液4ul做PCR扩增。

【试剂准备】

按样品数（样品数=血清标本数+对照品数+定量阳性对照3个）n取 NG PCR反应液 n $\times$ 24ul、混合酶n $\times$ 2ul混于一离心管中，旋涡振荡器上振荡混匀10秒，按每管26ul分装于反应管中。将上述处理好的标本上清液和定量阳性对照1至3号（务必振荡混匀数秒）各取4ul分别加入反应管中，混匀，低速离心数秒，立即进行PCR扩增反应。

【PCR扩增】

FTC2000、PE5700、7700、icycler荧光仪的程序设置：

37℃反应2分钟，然后93℃保温5分钟，再按 93℃30秒→55℃30秒→72℃40秒循环40次。

lightcycler荧光仪的程序设置：

反应管置于LightCycler自动荧光PCR仪上，37℃反应2分钟，93℃2分钟，再按 93℃5秒→55℃10秒→72℃20秒循环40次，每个循环的升降温速率为20℃/S，每个循环在60℃30秒处进行荧光检测设置。

【结果分析与判断】

1、基线设定

1.1 PE5700、7700、FTC2000:

分析前把参比荧光定为TAMRA，如果没有Ct<16的强阳性标本，就选3-15个循环的平均荧光



信号为基线分析；如果有Ct<16的强阳性标本，就将此标本定为NG DNA>10¹⁰ copy/ml，并将此样品从数据库中剔除，再以3-15个循环的平均荧光信号为基线再分析Ct。

1.2 iCycler

基线一般按照自设值（2-10）即可，在实验结束后，选择PCR baseline subtract选项扣除基线值。若某些曲线出现了规则的剧烈的跳动，应视为非正常情况，将其从结果中剔除（点击select wells, 将此孔彩色点去，然后选择display wells）并注意调整坐标，使所有曲线都在坐标以内。

1.3 lightcycler

用荧光记数值F1/F2读取结果。基线设定原则以超过正常阴性对照扩增曲线的最高点，且Ct值不出现任何数值为准（一般在0.001-0.05范围内）。

2、阈值设定

以刚好高于阴性对照品的扩增曲线最高点，且阴性对照品Ct=40或0为原则，调整起始阈值。

其它相关检测试剂盒：

荧光定量PCR沙眼衣原体（CT）检测试剂盒
荧光定量PCR解脲支原体（UU）检测试剂盒
荧光定量PCR人乳头瘤病毒（HPV—6，11）检测试剂盒
荧光定量PCR乙型肝炎病毒（HBV）检测试剂盒
荧光定量PCR淋球菌（NG）检测试剂盒
荧光定量PCR结核分枝杆菌（TB）检测试剂盒



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市闵行区北桥镇吴河路 328 号 A 栋 2 楼

邮编：201109

联系：市场部

电话：021-54460832 800-988-1995

E-mail: master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn

