



## 耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重 PCR 试剂盒

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

官方 Q Q： 2881498548

官方网址：[www.tw-reagent.com](http://www.tw-reagent.com)

监督电话：021-54845833

### 产品及特点：

耐万古霉素肠球菌 (Vancomycin-Resistant Enterococcus, VRE)，又名万古霉素抗性肠球菌，是肠球菌属下的一种细菌，有着对万古霉素这种抗生素的抗药性。在肠球菌属中，对人类有着病原性的有粪肠球菌及屎肠球菌。而所有屎肠球菌更是有着抗药性的，亦即所有屎肠球菌都是 VRE。肠球菌属的细菌主要是在肠内，亦可以在人类的消化道及尿道内发现。VRE 特别对免疫系统受损的人有危险性，但是它令健康的人受感染则较少见。一般来说可以引起心内膜炎、败血症及尿道感染等病症。因此快速灵敏检测耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 基因型具有重要意义。本产品就是为此目的根据 PCR 原理开发的试剂盒，它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供 DNA 模板。
2. 引物经过精心优化，专一性强，只扩增耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重，与其他病原没有交叉反应。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. PCR mix 中含上样染料，PCR 后可以直接上样电泳。
5. 本试剂盒足够做 40 $\mu$ L 体系的 PCR 50 次，但只能用于科研。

### 规格及成分：

编号	成分	规格
试剂一	PCR MagicMix 3.0	1 mL (红盖)
试剂二	超纯水	1 mL (亮黄色)
试剂三	耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重 PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L)	50 $\mu$ L (黄盖)
试剂五	使用手册	1 份

### 运输及保存：



低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。阳性对照需要单独放置，不要污染其他试剂。

## 自备试剂：

样品 DNA。

## 使用方法：

### 一、样品 DNA 的制备：

1. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数核酸提取试剂盒兼容。可以选用本公司柱式病毒 DNAout。
2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个提取，包括一个样品制备阳性对照和一个样品制备阴性对照。样品制备阳性对照是在适量水（取决于试剂盒要求的样品起始量）中加 10μL 耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重 PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液而得，样品制备阴性对照是直接用水。提取结束后最后得到模板 DNA 放冰上待用。

### 二、设置 PCR 反应(40μL 体系)：

3. 对 N+2 个样品，在 PCR 时需要增加一个 PCR 阳性对照和一个 PCR 阴性对照，故需要设置 N+4 个反应。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分：

成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
PCR Magic Mix 3.0	各 20μL	20μL	20μL
耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重 PCR 引物混合液	各 2μL	2μL	2μL
N+2 个样品 DNA 模板	各 18μL	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18μL	--
PCR 阳性对照 (耐万古霉素肠球菌 vanA/vanB 双重 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18μL

4. 按下表设置 PCR 反应：

过程	温度	时间
预变性	95℃	5 min
PCR 反应 35 个循环	95℃	30 sec
	55℃	30 sec
	72℃	40 sec



最后延伸	72°C	7 min
------	------	-------

### 三、电泳检测：

5. 取 10-20  $\mu\text{L}$  PCR 产物。电泳检测 PCR 产物。本产品提供的 PCR Mix 在扩增结束后可以直接上样，不需要另外再加 loading buffer。PCR 产物阳性对照必须有 551bp 大小的条带出现，阴性对照必须无任何扩增，否则实验无效。对没有扩增产物的样品，可以稀释 10 倍后重复 PCR 扩增以排除 PCR 抑制剂的感染。

### 四、特别提示：

**本公司的所有产品，仅可用于科研实验，严禁用于临床医疗及其他非科研用途！**