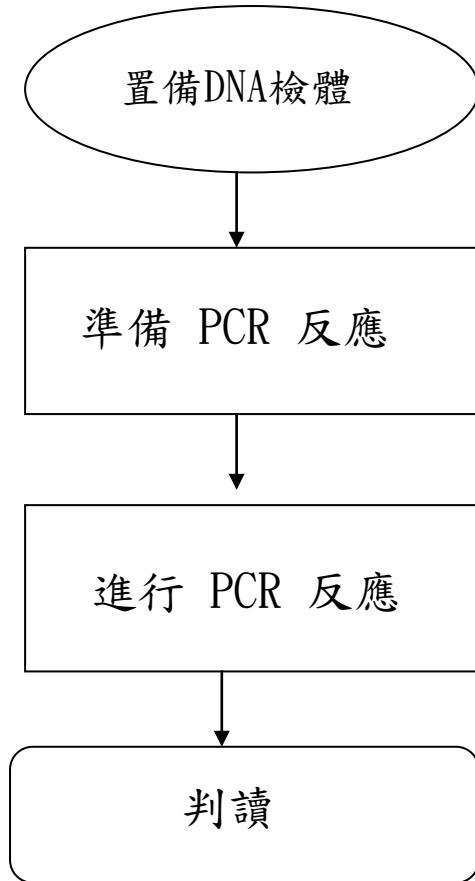


Venor GEM 簡易操作手冊

流程



A. 檢體 DNA:

I. 檢體來源:

各種分泌物或擦拭檢體或其他如組織及培養的細胞等均可。

II. 純化 DNA

使用適當的 DNA 純化試劑組純化 DNA

B. 準備 PCR 反應

1.. Venor GEM試劑

原廠試劑組有:

紅頭管: Primer/Nucleotide Mix (乾躁包裝含)。綠頭管: Positive control DNA (乾躁包裝)。黃頭管: Internal Control DNA (乾躁包裝)。白頭管: PCR級的純水。

藍頭管:PCR 反應緩衝液(500ul, 10x PCR reaction buffer, 適用MB TAQ DNA Polymerase)。***注意:若您的Taq polymerase非MB Taq polymerase (cat #53-0050, 53-0100, 53-0200, 53-0250), 請使用 Taq polymerase製造商提供的 Buffer。

原廠是乾燥試劑包裝, 故第一次使用時請依下列驟:

- 以桌上型 13000rpm 離心機-最高速離心5 sec

- 加入 去離子DNA-free water, 如下:

primer/nucleotide mix (per portion of 25 reactions) 65 μ l (紅頭管)

positive control 300 μ l (綠頭管)

internal control 300 μ l (黃頭管)

- 適溫靜置 5 minutes

- 簡易震盪並最高速離心5 sec (注意: 加水之後請保存于-18°C)

2. 設定 PCR 機器

1 cycle 94°C for 2 min

39 cycles 94°C for 30 sec

55°C for 30 sec

72°C for 30 sec, cool down to 4 to 8 °C

3. 準備 PCR 反應試劑 (每一PCR 反應體積為25 ul, 請依下表混合)

Table 1: examples for pipetting schemes

	For 1 reaction	For 5 reactions	For 25 reactions
Taq Pol. (5 U/ μ l)	0.2 μ l	1.0 μ l	5 μ l
internal control (yellow cap)	2.5 μ l	12.5 μ l	62.5 μ l
primer/nucleotide mix (red cap)	2.5 μ l	12.5 μ l	62.5 μ l
10x reaction buffer (blue cap)	2.5 μ l	12.5 μ l	62.5 μ l
去離子水- DNA-free	15.3 μ l	76.5 μ l	382.5 μ l
DNA 檢體 (每反應 2 μ l)	2 μ l	10 μ l	50 μ l

4. 判定結果

Band pattern	判讀
191bp 的 PCR 產物	無 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 感染
270bp 及 191bp 的 PCR 產物	輕微 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 感染
很明顯的 270 bp PCR 產物	高度 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 感染
無PCR 產物	PCR 失敗