



副溶血弧菌 **tdh/tlh/trh** 三重探针法荧光定量 PCR 试剂盒

Vibrio parahemolyticus tdh/tlh/trh Triplex Probe qPCR Kit

仅

供

科

研

使

用

	<p>副溶血弧菌(<i>Vibrio parahemolyticus</i>)属于弧菌科弧菌属，为革兰氏阴性菌，是一种嗜盐性细菌，广泛存在于海水、海底沉积物、海产动物（如鱼、虾、蟹、贝、海蜇等的体表或者肠道内）和盐分含量较高的腌制食品中（如咸菜、腌鱼等）。通过食用这些海鲜动物，副溶血弧菌可以进入食用者的体内，可引发急性肠胃炎、伤口感染和败血症，甚至导致感染者死亡。副溶血弧菌的主要致病因子是耐热直接溶血素(Thermostable Direct Hemolysin, TDH)、不耐热溶血素(Thermolabile Hemolisin, TLH)和耐热直接溶血素相关溶血素(Thermostable Direct Hemolysin-related Hemolysin, TRH)，分别由 <i>tdh</i>、<i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因编码，因此，同时 <i>tdh</i>、<i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因具有重要意义。本产品就是以探针法 qPCR 技术为基础开发的相关试剂盒，它具有下列特点：</p>																											
产品及特点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。 2. 引物和探针经过优化，分析灵敏性高，可以达到 100 拷贝/反应。 3. 提供阳性对照，便于排除假阴性结果。 4. 特异性高，引物和探针分别根据副溶血弧菌 <i>tdh</i>、<i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因高度保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 或副溶血弧菌的其他基因发生交叉反应。 5. 本产品只用于定性检测，不推荐用于定量检测。 6. <i>tdh</i>、<i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因分别用 FAM、HEX 和 ROX 标记的三个探针检测。 7. 本产品足够 50 次 20μL 体系的探针法 qPCR 反应。 8. 本产品只能用于科研。 																											
规格及成分	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>规格</th> <th>包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×Probe qPCR MasterMix</td> <td>500μL</td> <td>0.5mL 红盖管</td> </tr> <tr> <td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td> <td>1mL</td> <td>1.5mL 绿盖管</td> </tr> <tr> <td>副溶血弧菌 <i>tdh</i>、<i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因三重 PCR 引物-探针干粉</td> <td>50 次</td> <td>0.5mL 棕色管</td> </tr> <tr> <td>副溶血弧菌 <i>tdh</i> 基因阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td> <td>50μL</td> <td>0.5mL 白色管</td> </tr> <tr> <td>副溶血弧菌 <i>trh</i> 基因阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td> <td>50μL</td> <td>0.5mL 黄盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> <tr> <td colspan="3">本产品采用十孔盒包装</td></tr> <tr> <td colspan="3">注 意：在使用前需要短暂离心引物-探针干粉管，然后在离心管中加入 165 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20°C保存。</td></tr> </tbody> </table>	成分	规格	包装	2×Probe qPCR MasterMix	500μL	0.5mL 红盖管	荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管	副溶血弧菌 <i>tdh</i> 、 <i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因三重 PCR 引物-探针干粉	50 次	0.5mL 棕色管	副溶血弧菌 <i>tdh</i> 基因阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 白色管	副溶血弧菌 <i>trh</i> 基因阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 黄盖管	使用手册	1 份	无	本产品采用十孔盒包装			注 意： 在使用前需要短暂离心引物-探针干粉管，然后在离心管中加入 165 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20°C保存。		
成分	规格	包装																										
2×Probe qPCR MasterMix	500μL	0.5mL 红盖管																										
荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管																										
副溶血弧菌 <i>tdh</i> 、 <i>tlh</i> 和 <i>trh</i> 基因三重 PCR 引物-探针干粉	50 次	0.5mL 棕色管																										
副溶血弧菌 <i>tdh</i> 基因阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 白色管																										
副溶血弧菌 <i>trh</i> 基因阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 黄盖管																										
使用手册	1 份	无																										
本产品采用十孔盒包装																												
注 意： 在使用前需要短暂离心引物-探针干粉管，然后在离心管中加入 165 μL 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**

- 如果有 N 个样品，最好设置 N+2 个提取，多出的一个是样本制备 PC（阳性对照），一个是样本制备 NC（阴性对照）。可以用自备的、确定三个基因为阳性的样本作为样品制备 PC。可以用自备的、确定是阴性的样本作为样品制备 NC，可以用水替代。
- 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。

二、Probe PCR 反应 (20μL 体系, 在样品制备室进行)

- 如果有 N+2 个核酸提取，则设置 N+6 个 PCR 反应，多出的 4 个 1 个用于 PCR NC，另外三个分别用于三个待检测基因的 PCR PC。在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复）：

成分	样品管 N+2 个	PCR NC	tdhPC	tihPC	trhPC
2×Probe qPCR MasterMix	各 10μL	10μL	10μL	10μL	10μL
副溶血弧菌 tdh、tih 和 trh 基因三重 PCR 引物-探针溶液	各 3μL	3μL	3μL	3μL	3μL
N+2 个待测 DNA 样本	各 7μL	不加	不加	不加	不加
副溶血弧菌 tdh 基因阳性对照 (1× 10E4 拷贝/μL)	不加	不加	不加	不加	不加
副溶血弧菌 tih 基因阳性对照 (1× 10E4 拷贝/μL)	不加	不加	7μL	不加	不加
副溶血弧菌 trh 基因阳性对照 (1× 10E4 拷贝/μL)	不加	不加	不加	不加	7μL

- 盖上盖子后上机，按下面参数进行 PCR：

过程	温度	时间
预变性	95°C	10min
PCR 反应 (45 个循环)	94°C	15sec
	60°C	60 sec (采集 FAM 通道、HEX 通道和 ROX 通道的荧光信号，淬灭基团均为 TAMRA)

三、数据处理

- 实验有效性分析：

	<p>PC：所有 PC 反应该在对应的通道呈现阳性，如 tdh PC 应该为 FAM 通道阳性， tlh PC 应该为 HEX 通道阳性。如果样本制备 PC 在其对应的通道为阴性，则整个样本制备实验无效。如果三个基因的 PCR PC 在其对应的通道为阴性（如 tlh PC 为 HEX 通道阴性），则整个 PCR 扩增实验无效。样本制备无效和扩增实验无效时均不需要分析数据，需要找到原因后再进行后续实验，可能原因包括操作失误、试剂变质或仪器故障。NC：样本制备 NC 和 PCR NC 应该在所有通道呈阴性。如果样本制备 NC 或 PCR NC 结果在任何通道为阳性，则整个样本制备和 PCR 扩增实验无效，不需要分析数据，需要找到原因后再进行后续实验。可能原因是环境污染。</p> <p>如果 PC 和 NC 均正常，则实验有效，可以对待测样本结果进行分析。</p> <p>6. 样本结果分析：如果 FAM 通道、HEX 通道和 ROX 通道的 Ct 大于或等于 40，或者没有 Ct 值，则判为阴性。如果 Ct 小于 40，并且荧光信号呈现倒 S 的典型扩增曲线，则判断为该通道对应的基因阳性。FAM 通道阳性则表示含有 tdh 基因，HEX 通道阳性则表示含有 tlh 基因，ROX 通道阳性则表示含有 trh 基因。</p>
PCR 编号	TW-E10236
说明书	1 份
自备试剂	样品 DNA
运输及保存	低温运输， -20°C 保存，有效期 1 年

生产企业：上海通蔚实业有限公司

公司地址：上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603

上海通扇

公司电话：021-54845833

技术支持：15800441009