



## 副溶血性弧菌 PCR 试剂盒

### 产品及特点：

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 是一种海洋细菌，主要来源于鱼、虾、蟹、贝类和海藻等海产品。进食含有该菌的食物可致食物中毒，也称嗜盐菌食物中毒。潜伏期自 1 小时至 4 天不等，多数为 10 小时左右，起病急骤，常有腹痛、腹泻、呕吐、失水、畏寒及发热，腹痛多呈阵发性绞痛，常位于上腹部、脐周或回盲部，腹泻每日 3~20 余次不等，大便性状多样，多数为黄水样或黄糊便，约 2%~16% 呈典型的血水或洗肉水样便，部分病人的粪便可为脓血样或粘液血样，对人体健康具有巨大危害，因此快速检测具有重要意义。

本试剂盒根据荧光定量 PCR 原理开发，

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，只扩增副溶血性弧菌，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 | 副溶血性弧菌 PCR 引物混合液                            | 100 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂四 | 副溶血性弧菌 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 副溶血性弧菌 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(40 μL 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     |
| 副溶血性弧菌 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 (副溶血性弧菌 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液) | 18 $\mu$ L | 18 $\mu$ L | 18 $\mu$ L |
|--------------------------------------|------------|------------|------------|

4. 按下表设置 PCR 反应:

| 过程            | 温度   | 时间     |
|---------------|------|--------|
| 预变性           | 95°C | 5 min  |
| PCR 反应 35 个循环 | 95°C | 30 sec |
|               | 55°C | 30 sec |
|               | 72°C | 40 sec |
| 最后延伸          | 72°C | 7 min  |

三、电泳检测:

5. 取 10-20  $\mu$ 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。

**上海纪宁实业有限公司([www.shjning.com](http://www.shjning.com))所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。**

