天净沙系列

CAT#:15-t195-4

低温运输，-20℃保存

天净沙

空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌四重探针法 PCR 试剂盒

Campylobacter jejuni、Campylobacter coli、Campylobacter lari、Campylobacter upsaliensis Quadruple Probe PCR Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌四重探针法 PCR 试剂盒，它具有下列特点：

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空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌 DNA 高度保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 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. 空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌分别用 FAM、HEX、FAM 和 HEX 四个探针检测。
7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 PCR 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用十孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	981201	500 μL	0.5 mL 红盖管
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5mL 绿盖管
空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌四重 PCR 引物-探针干粉	Yp15-t195-4	50 次	0.5mL 棕色管
空肠弯曲菌阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-44330	50 μL	0.5mL 棕色管
结肠弯曲菌阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-t195	50 μL	0.5mL 棕色管
海鸥弯曲菌阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-t201	50 μL	0.5mL 黄盖管
乌普萨拉弯曲菌阳性对照 (1E7 拷贝/μL)	Pc15-t28080	50 μL	0.5mL 黄盖管
使用手册	15-t195-4sc	1 份	无

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℃保存

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

自备物品

样品 DNA。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 如果有 N 个样品，最好设置 N+3 个提取，多出的一个是 PC（样品制备阳性对照），一

个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用自备的、确定是阳性的样本作为样品制备阳性对照，可以用自备的、确定是阴性的样本作为样品制备阴性对照，可以用水替代。

2. 用自选方法纯化样品的 DNA（含内参），本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。

二、Probe PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）

3. 如果有 N+3 个核酸提取，则设置 N+6 个 PCR 反应，多出的 3 个 1 个用于 PCR NC，另外 2 个分别用于 2 个待检测物种的 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	空肠弯曲菌 PC	结肠弯曲菌 PC
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌四重 PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA	各 7 μL	不加	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加	不加
空肠弯曲菌阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL	不加
结肠弯曲菌阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	不加	7 μL

成分	样品管 N+2 个	PCR NC	海鸥弯曲菌 PC	乌普萨拉弯曲菌 PC
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
空肠弯曲菌、结肠弯曲菌、海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌四重 PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA	各 7 μL	不加	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加	不加
海鸥弯曲菌阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL	不加
乌普萨拉弯曲菌阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	不加	7 μL

4. 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℃	10 min
PCR 反应	94℃	30 sec

（45 个循环）	55℃	15 sec
	72℃	60 sec（采集 FAM、HEX 通道的荧光信号，淬灭基团均为 TAMRA）

三、数据处理

5. 如果 PPC 和 APC 结果均为阴性，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要重做扩增或制备或跟厂家联系。如果 PNC 或 ANC 结果为阳性，说明环境污染，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系，购买新的引物和探针。
6. 如果阴性对照和阳性对照正常，则实验有效，可以进入后续分析。
7. 对定性检测，只判断阳性或阴性。

空肠弯曲菌、结肠弯曲菌结果判定		
FAM	Ct 值小于或等于 40	空肠弯曲菌阳性
	Ct 值大于 40	空肠弯曲菌阴性
HEX	Ct 值小于或等于 40	结肠弯曲菌阳性
	Ct 值大于 40	结肠弯曲菌阴性

海鸥弯曲菌、乌普萨拉弯曲菌结果判定		
FAM	Ct 值小于或等于 38	海鸥弯曲菌阳性
	Ct 值大于 38	海鸥弯曲菌阴性
HEX	Ct 值小于或等于 38	乌普萨拉弯曲菌阳性
	Ct 值大于 38	乌普萨拉弯曲菌阴性

关联产品	空肠弯曲菌探针法 qPCR 试剂盒