

溶藻弧菌探针法 LAMP 试剂盒

Vibrio alginolyticus Probe LAMP Kit

目录号: ml107918

使 用 说 明 书

产品及特点

溶藻弧菌(Vibrio alginolyticus)属弧菌科弧菌属, 是一种短杆状革兰氏阴性细菌。溶藻弧菌是一种重要的水产养殖业病原菌, 致使多种鱼、虾和贝类感染, 主要症状是运动力下降、皮肤灰暗、鳞片松散并且会伴随体表溃疡, 肝脏、肠壁毛细血管和消化道等充血、充水。同时, 人体也可通过食用污染后的水产食物引起急性胃肠炎等疾病, 严重威胁人类健康。由于溶藻弧菌给世界各地的水产养殖业造成了巨大损失, 还威胁人类身体健康, 因此对溶藻弧菌的快速准确鉴定有重要作用, 为此本公司根据独有的探针法 LAMP 技术, 开发了简单快捷的溶藻弧菌 LAMP 检测试剂盒, 它具有下列

特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供 DNA 样品。
2. 恒温扩增, 简单快捷。
3. 含荧光探针, 扩增的专一性比染料法和电泳法更强。

4. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。
5. 一般 30 分钟内出结果，比 PCR 快。
6. 上样量大，对 20 μ L 的反应体系，样品加样量高达 14 μ L。
7. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。
8. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。
9. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。
10. 本产品足够 50 次 20 μ L 体系的探针法 LAMP 扩增。
11. 只可用于科研。

规格及成分

成分	规格	包装
4×LAMP MasterMix （探针法，待加酶）	200 μ L	0.5mL 绿盖管
Bst DNA 聚合酶 2.0	50 μ L	0.5mL 红盖管
20×溶藻弧菌 LAMP 引物-探针干粉	50 次	0.5 mL 棕色管
溶藻弧菌 LAMP 阳性对照（1E4 拷贝/ μ L）	250 μ L	0.5mL 黄盖管
超纯水	1mL	1.5mL 蓝盖管
使用手册	1 份	1 份
本产品采购 5 孔盒包装		

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 用自选方法纯化样品 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容，包括本公司的免提取的核酸释放剂。

2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个样品制备，包括一个样品制备阳性对照（PC）和一个样品制备阴性对照（NC）。PC 用 10 μL 本试剂盒提供的阳性对照（1E4 拷贝/μL）加一定量的水作为样品制备 PC，加水后的总体积跟所用核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。NC 用水替代。

二、LAMP 反应 (20μL 体系)

3. 反应设置:第一次使用时请把所有 Bst DNA 聚合酶 2.0 (50 μL, 本试剂盒提供) 加入到 4×LAMP MasterMix (探针法, 待加酶) 中, 轻柔颠倒 20 次充分混匀, 然后再取用。如果有 N+2 个 DNA 纯化样品, 则设置 N+4 个 LAMP 扩增, 增加 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照各 1 个。

在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分:

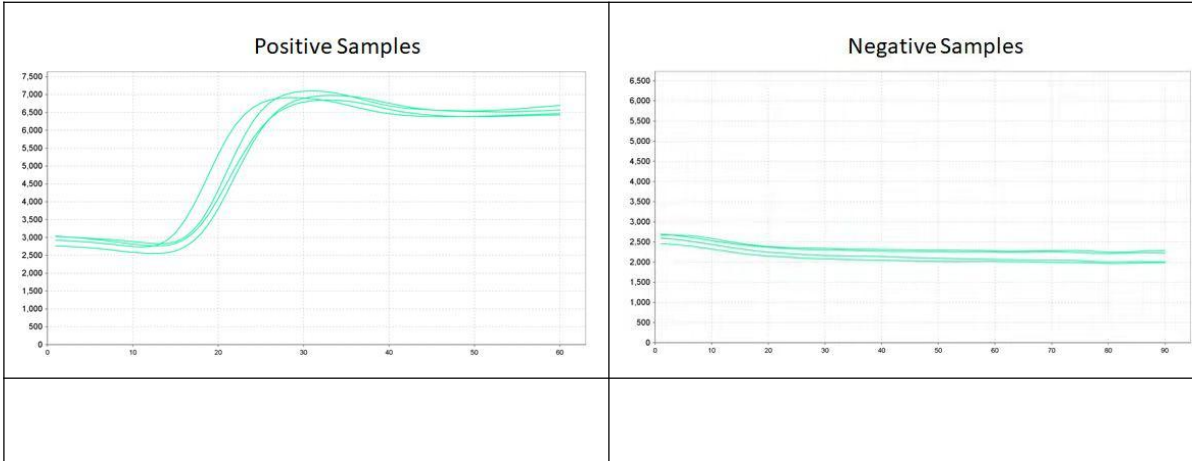
成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4×LAMP MasterMix (探针法, 加酶后)	各 5μL	5μL	5μL
20×溶藻弧菌 LAMP 引物-探针混合液	各 2μL	2μL	2μL
N+2 个样品 DNA	各 13μL	-	-
超纯水	-	13μL	-
第 2 步所得阳性对照的 10 倍稀释液	-	-	13μL

4. 置于荧光定量 PCR 仪中 65℃保温 60 分钟进行扩增, 每分钟在 FAM 通道采集一次荧光信号。

三、结果分析

5. 样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的反应液将有标准的 S 扩增曲线, 样品制备阴性对照和 LAMP 阴性对照的反应液将没呈平线, 没有 S 曲线, 否则提取实验或扩增实验无效。如果阳性和阴性对照结果正常, 则实验有效, 可以分析样品的情况。样品管的荧光曲线为 S 型, 则说明样品为阳

性，如果为平线则说明待测样品为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性，右边为阴性。



自备试剂

待测样品。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。