



# 蜡状芽孢杆菌 PCR 试剂盒

## 产品及特点：

芽孢杆菌属(Bacillus)中的一种。菌体细胞杆状，末端方，成短或长链， $1.0\sim1.2\times3.0\sim5.0$ 微米。产芽孢，芽孢圆形或柱形，中生或近中生，1.0~1.5微米，孢囊无明显膨大。革兰氏阳性，无荚膜，运动。菌落大，表面粗糙，扁平，不规则。会引起食物中毒，中毒者症状为腹痛、呕吐腹泻。蜡状芽孢杆菌可产生抗菌物质，抑制有害微生物的繁殖，降解土壤中的营养成分，改善生态环境。可产生细菌蛋白酶 可用于麻脱胶，是各种抗生素抗菌活性的测定菌。可用于明胶液化，牛奶胨化，还原硝酸盐，水解淀粉。

本产品是根据 PCR 原理开发的蜡状芽孢杆菌检测试剂盒，它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供 DNA 模板。
2. 引物经过精心优化，专一性强，只扩增蜡状芽孢杆菌，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  $40\mu\text{L}$  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	蜡状芽孢杆菌 PCR 引物混合液	100 $\mu\text{L}$ (白盖)
试剂四	蜡状芽孢杆菌 PCR 阳性对照 ( $1\times10^8/\mu\text{L}$ )	50 $\mu\text{L}$ (黄盖)



试剂五	使用手册	1 份
-----	------	-----

## 运输及保存:

低温运输，-20°C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 蜡状芽孢杆菌 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 (40μL 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
蜡状芽孢杆菌 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 (蜡状芽孢杆菌 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18μL



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  $\mu\text{L}$  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。**