



## 灭鲑气单胞菌 PCR 试剂盒

### 产品及特点:

灭鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)是气单胞菌属(*Aeromonas*)细菌的一个种,是引起鲑鳟鱼类疔疮病及溃疡病的最主要病原菌,给鲑科(*Salmonidae*)鱼类养殖带来严重损失。近年来研究表明,该菌宿主范围逐渐扩大,可感染除了鲑科外的其他水产动物,如刺参、斑点叉尾鲴、乌鳢和大菱鲆等。对灭鲑气单胞菌的检测主要依赖于传统的微生物分离培养鉴定方法,其操作过程费时、繁琐,且很难得到准确结果,常常延误病情的诊断,而且对于已感染该菌但尚未发病的鱼类,通过常规分离鉴定方法很难得到准确结果。本产品是根据 PCR 原理开发的灭鲑气单胞菌检测试剂盒,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,只扩增灭鲑气单胞菌,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	灭鲑气单胞菌 PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	灭鲑气单胞菌 PCR 阳性对照 ( $1 \times 10^8$ / $\mu$ 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°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 10 $\mu$ L 灭鲑气单胞菌 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 $\mu$ L 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 20 $\mu$ L	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L
灭鲑气单胞菌 PCR 引物混合液	各 2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L
N+2 个样品 DNA 模板	各 18 $\mu$ L	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18 $\mu$ L	--
PCR 阳性对照 (灭鲑气单胞菌 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	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。**