



幼虫芽孢杆菌 PCR 试剂盒

产品及特点:

美洲幼虫腐臭病 (American foulbrood , AFB) 是由 幼虫芽孢杆菌(Paenibacillus larvae)引起的蜜蜂幼虫和蛹的一种细菌性、急性、毁灭性传染病, 其典型症状为封盖后死亡的幼虫巢房盖变潮湿、下陷、颜色发暗并显油光, 大部分巢房盖穿孔, 患病幼虫虫体变软, 失去正常白色和光泽, 逐渐变成淡褐色至棕黑色。AFB 一旦在蜂场发生, 极易造成幼虫死亡和蜂群群势衰弱, 且很难彻底清除, 给养蜂业造成重大经济损失。世界动物卫生组织(OIE) 将其列为法定报告动物疫病, 我国将其列为二类动物疫病和进境动物检疫疫病。本产品是根据 PCR 原理开发的幼虫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, 只扩增幼虫芽孢杆菌, 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 μ 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	幼虫芽孢杆菌 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	幼虫芽孢杆菌 PCR 阳性对照 (1 \times 10E8 / μ L)	50 μ 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 μ L 幼虫芽孢杆菌 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 (40 μ 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 μ L	20 μ L	20 μ L
幼虫芽孢杆菌 PCR 引物混合液	各 2 μ L	2 μ L	2 μ L
N+2 个样品 DNA 模板	各 18 μ L	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18 μ L	--



PCR 阳性对照 (幼虫芽孢杆菌 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18 μ 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 μ 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)所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。

