



## 产肠毒素性大肠杆菌(大肠埃希氏菌)PCR 试剂盒

### 产品及特点:

产肠毒素性大肠杆菌 (Enterotoxigenic E.coli, ETEC) 是一类引起人和幼畜 (初生仔猪、犊牛、羔羊及断奶仔猪) 腹泻的重要病原菌, 初生幼畜被 ETEC 感染后, 常因剧烈水样腹泻和迅速脱水而死亡, 发病率和死亡率均很高。据估计, 国内约有 35% 的仔猪腹泻是由 ETEC 引起的, 美国等国家新生仔猪腹泻中, 由 ETEC 引起的占 45% 以上, 给养殖业带来严重的经济损失。因此产肠毒素性大肠杆菌检测具有重要的意义。

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, 只扩增产肠毒素性大肠杆菌 (大肠埃希氏菌), 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	1mL (红盖)
试剂二	超纯水	1mL (亮黄色)
试剂三	产肠毒素性大肠杆菌 (大肠埃希氏菌) PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	产肠毒素性大肠杆菌 (大肠埃希氏菌) PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ 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 $^{\circ}$ 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 产肠毒素性大肠杆菌（大肠埃希氏菌）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
产肠毒素性大肠杆菌（大肠埃希氏菌）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（产肠毒素性大肠杆菌（大肠埃希氏菌）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。**



上海纪宁生物

[www.shjning.com](http://www.shjning.com)

仅供科研使用