



副猪嗜血杆菌 PCR 试剂盒

产品及特点:

副猪嗜血杆菌(Haemophilus parasuis, HPS)属巴斯德氏菌科嗜血杆菌属,是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)且没有运动性的小型、多形性、革兰氏阴性杆菌。HPS 可引起猪多发性浆膜炎、关节炎,严重时导致体温升高、呼吸困难甚至死亡,给养猪业带来巨大的经济损失。目前对 HPS 的诊断主要是细菌分离培养和 PCR。HPS 培养需要 NAD、马血清和 5%CO₂ 环境,需 24-36 小时,还容易出现杂菌污染,因此 PCR 是目前诊断 HPS 最常用的方法。

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,只扩增副猪嗜血杆菌,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	1mL (红盖)
试剂二	超纯水	1mL (亮黄色)
试剂三	副猪嗜血杆菌 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	副猪嗜血杆菌 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℃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 副猪嗜血杆菌 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
副猪嗜血杆菌 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 (副猪嗜血杆菌 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。