

猪鼻支原体 PCR 试剂盒

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

咨询 QQ：2881498726

订购热线：021-54720761

咨询电话：13166274233(微信同号)

产品及特点：

猪鼻支原体病又称格拉斯病，是由猪鼻支原体引起猪的一种支原体性传染病。其发病特征是多发性浆膜炎和关节炎。一旦猪群中有一头猪感染猪鼻支原体，就会在猪群中迅速传播。本产品是根据 PCR 原理开发的猪鼻支原体检测试剂盒，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，只扩增猪鼻支原体，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 40μL 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 | 猪鼻支原体 PCR 引物混合液            | 100 μL（白盖） |
| 试剂四 | 猪鼻支原体 PCR 阳性对照（1×10E8 /μL） | 50 μL（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 10μL 猪鼻支原体 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     |
| 猪鼻支原体 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 (猪鼻支原体 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。

**所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**