

托拉斯假单胞菌 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:

细菌性褐斑病的病原菌为托拉斯假单胞杆菌 (*Pseudomonas tolaasii*) , 其产生的细胞外毒素 - 托斯毒素 (tolaasin) 可直接破坏平菇菌丝的细胞膜, 平菇菌盖表面产生黄褐色或深褐色的斑点, 使染病子实体的商品价值大大降低, 严重影响平菇生产的经济效益。因此, 了解托拉斯假单胞杆菌致病力状况, 对生产中平菇品种的选择和抗病育种均具有重要意义。本

产品是根据 PCR 原理开发的托拉斯假单胞菌检测试剂盒, 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, 只扩增托拉斯假单胞菌, 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 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	托拉斯假单胞菌 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	托拉斯假单胞菌 PCR 阳性对照 (1×10^8 / 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 $10\mu\text{L}$

托拉斯假单胞菌 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 ($40\mu\text{L}$ 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 $20\mu\text{L}$	$20\mu\text{L}$	$20\mu\text{L}$
托拉斯假单胞菌 PCR 引物混合液	各 $2\mu\text{L}$	$2\mu\text{L}$	$2\mu\text{L}$
N+2 个样品 DNA 模板	各 $18\mu\text{L}$	--	--

PCR 阴性对照 (水)	--	18μL	--
PCR 阳性对照 (托拉斯假单胞菌 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18μL

4. 按下表设置 PCR 反应：

过程	温度	时间
预变性	95℃	5 min
PCR 反应 35 个循环	95℃	30 sec
	55℃	30 sec
	72℃	40 sec
最后延伸	72℃	7 min

三、电泳检测：

5. 取 10-20 μL 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。**