



木质部难养细菌夹竹桃株 PCR 试剂盒

产品及特点：

木质部难养菌(*Xylella fastidiosa*)是革兰氏阴性、营养需求复杂、在木质部生长并且依靠昆虫介体传播的植物病原细菌。该菌的寄主范围很广，能侵染超过 30 个科的植物，包括单子叶和双子叶植物。该病原菌可以引起重要的农业经济作物病害。*X. fastidiosa* 也引起许多重要的木本观赏植物的细菌性叶灼病，如桑树、梧桐树、夹竹桃等。目前侵染这些木本观赏植物菌株的基因组序列很有限，能够区分、鉴定和检测这些菌株的分子诊断方法也鲜有报道。产品是根据 PCR 原理开发的木质部难养细菌检测试剂盒，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，只扩增木质部难养细菌夹竹桃株，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	木质部难养细菌夹竹桃株 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	木质部难养细菌夹竹桃株 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 10μL 木质部难养细菌夹竹桃株 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
木质部难养细菌夹竹桃株 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 (木质部难养细菌夹竹桃株 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 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。

