



肉毒梭状芽孢杆菌 PCR 试剂盒

产品及特点:

肉毒梭状芽孢杆菌广泛存在于自然界，是一种专性厌氧的腐生菌，革兰阳性，菌体粗大，具有 4~8 根周毛性鞭毛、运动迟缓，没有荚膜，芽孢卵圆形、近端位、芽孢比繁殖体宽。肉毒梭菌产生的肉毒毒素本质是蛋白质，为神经毒素，共产生六种毒素:A、B、C、D、E、F，其中的 A、B、E、F 与人类的食物中毒有关。肉毒毒素毒性剧烈，少量毒素即可产生症状甚至致死，对人的致死量为 0.1 μ g。毒素摄入后经肠道吸收进入血液循环，输送到外围神经，毒素与神经有强的亲和力，阻止乙酰胆碱的释放，导致肌肉麻痹和神经功能不全。

本公司开发肉毒梭状芽孢杆菌 PCR 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，只扩增肉毒梭状芽孢杆菌，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	1 mL (红盖)
试剂二	超纯水	1 mL (亮黄色)
试剂三	肉毒梭状芽孢杆菌 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	肉毒梭状芽孢杆菌 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 10μL 肉毒梭状芽孢杆菌 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 (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
肉毒梭状芽孢杆菌 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 (肉毒梭状芽孢杆菌 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°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。