



## 托拉斯假单胞菌 PCR 试剂盒

### 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 $\mu$ 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 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂四 | 托拉斯假单胞菌 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L) | 50 $\mu$ 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

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 (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     |
| 托拉斯假单胞菌 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 (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  $\mu$ 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。

**上海纪宁实业有限公司([www.shjning.com](http://www.shjning.com))所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**