



蜂房蜜蜂球菌(欧洲蜂幼虫腐臭病)PCR 试剂盒

产品及特点:

蜂房蜜蜂球菌 (*Melissococcus pluton*) 是引起欧洲幼虫腐臭病 (European foulbrood, 简称 EFB) 的病原菌, 该菌单个的形态为披针形, 常结成链状或成簇排列, 直径 $0.5\mu\text{m}\sim 1.0\mu\text{m}$, 是一种革兰氏阳性菌, 但有染色特性不稳定性, 有时候可能为革兰氏阴性菌, 兼性厌氧。由于欧洲幼虫腐臭病是急性、毁灭性传染病, 能导致蜜蜂幼虫的大批死亡, 最终导致整个蜂群的灭亡, 危害巨大, 其中中蜂发病比意蜂更严重, 我国也是主要的疫区之一。该病具有传播迅速、发病快的特点, 是蜜蜂的主要病害。农业部和质检总局联合制定的最新的《中华人民共和国进境动物检疫疫病名录》将其列为二类传染病。世界动物卫生组织 (OIE) 也将其列为检疫对象, 因此蜂房蜜蜂球菌快速检测具有重要的意义。本试剂盒就是为此目得根据 PCR 原理开发,

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, 只扩增蜂房蜜蜂球菌 (欧洲蜂幼虫腐臭病), 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 $40\mu\text{L}$ 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	蜂房蜜蜂球菌 (欧洲蜂幼虫腐臭病) PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂四	蜂房蜜蜂球菌 (欧洲蜂幼虫腐臭病) PCR	50 μL (黄盖)



	阳性对照 (1×10E8 /μL)	
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 蜂房蜜蜂球菌 (欧洲蜂幼虫腐臭病) 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 μL 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
蜂房蜜蜂球菌 (欧洲蜂幼虫腐臭病) 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 (蜂房蜜蜂球菌 (欧洲蜂幼虫腐臭病) 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。

