



柑橘黄龙病菌亚洲种 PCR 试剂盒

产品及特点：

柑橘黄龙病菌亚洲种 (Candidatus Liberobacter Asiaticus) 是一种类菌体，柑橘感染黄龙病后，全年均可发生，一般以夏梢和秋梢发病最多，其次是春梢。新梢的症状是叶片表现黄化和黄绿相间的斑驳。在叶片凋落后，枝梢上新长出的叶片表现缺素状的花叶。病梢变短、生势衰弱，病叶黄厚、变小，且易脱落，形成枯枝。开花不适时，花开的多、落得多。果小而畸形，或红鼻果。后期，根部往往表现为小根腐烂。此菌可以侵染芸香科柑橘属和金橘属植物，引发症状。通过菟丝子，此菌可以侵染长春花。在自然界，芸香科蚝壳刺属和木苹果属植物可能受此菌侵染，九里香属植物常见着生大量传播柑橘黄龙病的柑橘木虱，但其体内未见病原菌。本产品是根据 PCR 原理开发的柑橘黄龙病菌亚洲种的检测试剂盒，

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，只扩增柑橘黄龙病菌亚洲种，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	柑橘黄龙病菌亚洲种 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	柑橘黄龙病菌亚洲种 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 柑橘黄龙病菌亚洲种 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
柑橘黄龙病菌亚洲种 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 (柑橘黄龙病菌亚洲种 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18 μ L
--	----	----	------------

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。

