

小麦矮腥黑穗病菌 PCR 试剂盒

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

咨询 QQ : [2881498726](https://www.qq.com)

订购热线 : [021 - 54720761](tel:021-54720761)

咨询电话 : [13166274233](tel:13166274233)(微信同号)

产品及特点:

小麦矮腥黑穗病菌属中国一类检疫性有害生物，主要危害小麦作物，可造成农作物矮化、分蘖增多等病症。目前有 40 多个国家将此病列为检疫性病害。它可通过种子、土壤、空气等多种途径传播，甚至加工成面粉后仍可检出该菌的冬孢子。该菌在土壤中可存活多年，一旦传入将难以根除。分子生物学方法是精确揭示遗传关系较为稳定的方法，在植物病原细菌检测和鉴定中应用最多也是最主要的是专化性引物 PCR 技术。本产品是根据 PCR 原理开发检测小麦矮腥黑穗病菌的试剂盒，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，只扩增小麦矮腥黑穗病菌，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 | 小麦矮腥黑穗病菌 PCR 引物混合液 | 100 μ L (白盖) |
| 试剂四 | 小麦矮腥黑穗病菌 PCR 阳性对照 (1×10^8 / 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°C 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 10 μ L

小麦矮腥黑穗病菌 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 (40 μ L 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 20 μ L | 20 μ L | 20 μ L |
| 小麦矮腥黑穗病菌 PCR 引物混合液 | 各 2 μ L | 2 μ L | 2 μ L |

| | | | |
|---|--------------|------------|------------|
| N+2 个样品 DNA 模板 | 各 18 μ L | -- | -- |
| PCR 阴性对照 (水) | -- | 18 μ L | -- |
| PCR 阳性对照 (小麦矮腥黑穗病菌 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 $^{\circ}$ C | 5 min |
| PCR 反应 35 个循环 | 95 $^{\circ}$ C | 30 sec |
| | 55 $^{\circ}$ C | 30 sec |
| | 72 $^{\circ}$ C | 40 sec |
| 最后延伸 | 72 $^{\circ}$ 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。

所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。