



禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 试剂盒

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

官方 QQ：2881498548

官方网址：www.tw-reagent.com

监督电话：021-54845833

产品及特点：

禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 (Avian Pathogenicity Escherichia coli, APEC) 会引发大肠杆菌败血症，尤其在冬季发病率高，死淘率通常在 5%-20%，严重的可达 50%，雏鸡在夏季也较多发，病鸡精神不振，采食减少，衰弱和死亡，病鸡腹部膨满，排出黄绿色的稀便，特征性的病变是纤维素性心包炎，气囊混浊肥厚，有干酪样渗出物，肝包膜呈白色混浊，有纤维素性附着物，有时可见白色坏死斑，脾充血肿胀，给养殖业带来较大的经济损失，因此禽致病性大肠杆菌 O1 血清型检测具有重要的意义。本试剂盒根据荧光定量 PCR 原理开发，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，只扩增禽致病性大肠杆菌 O1 血清型，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	禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 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 $^{\circ}$ 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 RNA。



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 禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 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
禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 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 (禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 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。

四、特别提示：

本公司的所有产品，仅可用于科研实验，严禁用于临床医疗及其他非科研用途！

