

天
净
沙
系
列

CAT#:13-39580
低温运输, -20℃保存

BINGENE

禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 试剂盒
Avian Pathogenicity *Escherichia coli* PCR Kit

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 (Avian Pathogenic <i>Escherichia coli</i>, APEC) 会引发鸡大肠杆菌败血症, 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 血清型的快速检测具有重要的意义。本试剂盒根据 PCR 原理开发, 它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用, 用户只需要提供样品 DNA 模板。 2. 产品经过精心优化, 分析灵敏性能到达 1000 拷贝/反应。 3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。 4. 特异性高, 引物是根据禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 DNA 高度保守区设计, in silico 分析发现它只能检测禽致病性大肠杆菌 O1 血清型, 不会跟除此之外的其他生物的 DNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 体系的常规 PCR 反应。 6. 本产品只能用于定性实验, 不能用于定量实验。 7. 本产品只能用于科研。 																								
<p>规格及成分</p>	<p>本产品使用五孔盒包装</p> <table border="1" data-bbox="427 1267 1407 1742"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2\timesPCR MasterMix (电泳法)</td> <td>990805</td> <td>0.5 mL</td> <td>0.5 mL 本色管</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>210806</td> <td>1 mL</td> <td>1.5 mL 蓝盖管</td> </tr> <tr> <td>禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 引物混合液</td> <td>yw13-63500</td> <td>100 μL</td> <td>0.5 mL 白盖管</td> </tr> <tr> <td>禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 阳性对照 (1\times10E4 拷贝/μL)</td> <td>pc63500-GU299791</td> <td>250 μL</td> <td>0.5 mL 黄盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-63500sc</td> <td>1 份</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	规格	包装	2 \times PCR MasterMix (电泳法)	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色管	超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管	禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 引物混合液	yw13-63500	100 μ L	0.5 mL 白盖管	禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc63500-GU299791	250 μ L	0.5 mL 黄盖管	使用手册	13-63500sc	1 份	
成份	编号	规格	包装																						
2 \times PCR MasterMix (电泳法)	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色管																						
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管																						
禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 引物混合液	yw13-63500	100 μ L	0.5 mL 白盖管																						
禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc63500-GU299791	250 μ L	0.5 mL 黄盖管																						
使用手册	13-63500sc	1 份																							
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输, -20$^{\circ}$C 保存, 保存期限为一年。</p>																								
<p>自备试剂</p>	<p>样品 DNA。</p>																								

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取，多出的一个是 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用 10uL 本试剂盒提供的 PCR 阳性对照（ 1×10^4 拷贝/ μL ）加水作为核酸制备的阳性对照，加水后其体积必须跟核酸制备试剂盒所要求的起始样本体积一致。直接用水作为核酸制备的阴性对照。
2. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数细菌 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的相关产品或免提取的核酸释放剂。

二、设置 PCR 反应（20 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：

成分	N+2 个样品管	PCR 阴性对照管	PCR 阳性对照管
2×PCR MasterMix (电泳法)	各 10 μL	10 μL	10 μL
禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-
超纯水	-	8 μL	-
禽致病性大肠杆菌 O1 血清型 PCR 阳性对照 (1×10^4 拷贝/ μL)	-	-	8 μL

4. 按下表设置 PCR 反应：

过程	温度	时间
预变性	94 $^{\circ}\text{C}$	5 min
PCR 反应 (35 个循环)	94 $^{\circ}\text{C}$	30 sec
	50 $^{\circ}\text{C}$	30 sec
	72 $^{\circ}\text{C}$	30 sec
最后延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	5 min

三、电泳检测

5. 取 10uL 扩增产物进行常规琼脂糖电泳，检测扩增效果，由于扩增产物较短，建议用 1.5%-2.0%的琼脂糖凝胶。
6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 260bp。如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照）有此扩增产物，说明环境污染，则整个实验

	<p>无效，不需要分析实验结果。如果所有样品和 PCR 阳性对照均无此扩增产物，则说明有系统性的问题（试剂，设备，程序，操作等），需要重复并排查原因。</p> <p>7. 如果没有上述两种情况，则实验有效，可以分析样品的扩增结果。N+2 个样品中扩增产物的判断为阳性，无则判定为阴性。</p>
关联产品	禽致病性大肠杆菌 O1 血清型可视化 LAMP 扩增试剂盒