



咖啡美洲叶斑病菌 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：

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，只扩增咖啡美洲叶斑病菌，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 | 咖啡美洲叶斑病菌 PCR 引物混合液 | 100 μ L (白盖) |
| 试剂四 | 咖啡美洲叶斑病菌 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 $^{\circ}$ 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 咖啡美洲叶斑病菌 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 |
| 咖啡美洲叶斑病菌 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 (咖啡美洲叶斑病菌 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。

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！