



# 球孢白僵菌 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](http://www.tw-reagent.com)

监督电话：021-54845833

## 产品及特点：

球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 属于子囊菌门、肉座菌目、虫草菌科、白僵菌属，是广谱性昆虫病原真菌，主要进行无性繁殖，产生分生孢子;可进行有性生殖并产生子实体，被鉴定为球孢虫草。球孢白僵菌在世界范围被用于害虫生物防治，其中我国使用球孢白僵菌防治马尾松毛虫和玉米螟是国际上最大的害虫防治项目，取得良好的害虫持续控制效果。球孢白僵菌也能感染家蚕等经济昆虫，感染家蚕幼虫干燥后的尸体称为僵蚕。入药能祛风、镇惊等。由于加强防治，近年来白僵菌对家蚕的感染大为减少，为解决僵蚕的药源问题，以蚕蛹为原料，接入白僵菌，所得蚕蛹可代僵蚕用。本产品是根据 PCR 原理开发的球孢白僵菌检测试剂盒，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，只扩增球孢白僵菌，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 $\mu$ 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	球孢白僵菌 PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	球孢白僵菌 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L)	50 $\mu$ 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 $\mu$ L 球孢白僵菌 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 $\mu$ 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 $\mu$ L	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L
球孢白僵菌 PCR 引物混合液	各 2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L
N+2 个样品 DNA 模板	各 18 $\mu$ L	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18 $\mu$ L	--
PCR 阳性对照 (球孢白僵菌 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18 $\mu$ 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  $\mu$ 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！