

肉毒梭菌 E/F 型毒素基因 PCR 检测试剂盒使用说明书

(使用前请仔细阅读本说明书)

【产品名称】

通用名称：肉毒梭菌 E/F 型毒素基因 PCR 检测试剂盒

英文名称：PCR Detection Kit for Botulinum Neurotoxin Genes Type E/F

【包装规格】24 测试/盒

【产品编号】KJD07P

【产品简介】

本试剂盒基于 PCR 技术，并适用于食品中肉毒梭菌 E/F 型毒素基因的检测。

【检测原理】

利用 2 对特异性引物和 PCR 反应所需其他试剂，如反应缓冲液、dNTPs 以及 *Taq* DNA 聚合酶等，加入待检 DNA 模板样品，即可进行 PCR 扩增反应。经比对扩增产物目标条带即可判定 E/F 型肉毒梭菌毒素基因。

【产品特点】

1. 快速简便：将酶、引物等反应组分混匀后进行干粉化处理，增加试剂稳定性，使用时减少溶液配制步骤，更为便捷，整个检测反应可在 3 h 内完成；
2. 特异性高：按照 GB 4789.12-2016《食品微生物学检验肉毒梭菌及肉毒毒素检验》提供的目标基因引物，保证扩增反应的高度特异性；
3. 判读简单：扩增产物经琼脂糖凝胶电泳和紫外仪观察目标条带即可判别，直观方便。

【产品组分】

编号	组分名称	规格×数量
--	冻干试剂(bont E/F)	8 管×3 排
--	复溶液	1 mL×1 管
Y07	阳性对照	1 管（冻干型）
--	阴性对照	1 管（冻干型）
--	裂解液	1 mL×1 管
--	超纯水	1 mL×1 管
--	6×Loading buffer	240 μL×1 管
	说明书	1 份

【储存条件与保质期】

2~8℃条件下储存，有效期为 12 个月。

【所需其他材料和适用仪器】

1. PCR 仪器、高速离心机、电泳仪、水平电泳槽、紫外仪、移液器、移液枪头及离心管等；
2. 琼脂糖、溴化乙锭 (EB) 或其他核酸染料。

【使用指南】

1. 样品前处理

- 1) 参照 GB 4789.12-2016，挑取可疑菌落或待鉴定菌株接种 TPGY，35℃±1℃ 厌氧培养 24 h。吸取 TPGY 培养液 1 mL 至无菌离心管中，12000 r/min 离心 2 min，弃上清，加入 30 μL 裂解液，充分悬浮，转移至 0.2 mL 无菌离心

管中，轻弹管壁消除气泡，99℃加热 10 min；

- 2) 12000 r/min 离心 15 min，上清即为粗提的 DNA，可转移至 0.2 mL 无菌离心管中，在-20℃下可长期保存。

2. 加样、反应

- 1) 首次使用时，分别加入 80 μL 超纯水至阳性对照和阴性对照管中，充分溶解，-20℃存储待用；
- 2) 取出干粉试剂，按照需求分别剪取 n 个检测试剂管 (n=待检测样品数+1 管阳性对照+1 管阴性对照)，每管加入 18 μL 复溶液，充分溶解后待用；
- 3) 向上述已加入复溶液的 n 个反应管中分别加入待测样品核酸、阴性对照、阳性对照各 2 μL，紧盖后置于 PCR 仪中按设定的反应程序进行扩增反应；
- 4) PCR 反应程序如下：

温度	时间	循环数
94℃	5 min	1
94℃	30sec	} 35
55℃	30sec	
72℃	70 sec	
72℃	5 min	1

3. 结果判读

反应后每管中加入 4 μL 6×Loading buffer，混匀，并取 8 μL 经 1.5%琼脂糖凝胶电泳，在紫外仪下观察，阴性对照无条带扩增，阳性对照中出现目标条带(参照图 1)，PCR 试验结果成立。根据每个样品对应的反应产生的目标条带，即可判断肉毒梭菌毒素基因类型。若阴阳性对照管反应结果不符，则本次检测结果无效，应重新检测或与产品技术支持联系。

【注意事项】

1. 实验环境条件和过程控制应参照 GB/T 27403《实验室质量控制规范食品分子生物学检测》规定执行；
2. 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文，检测过程中建议穿洁净工作服，戴一次性手套，使用的枪头需提前灭菌；
3. 干粉检测试剂在使用前低速离心，确保所有的干粉沉在管底，加入复溶液如产生气泡用手指轻弹管壁清除，反应前检查反应管是否盖紧，避免泄露造成污染；
4. 试剂盒中反应管材质为聚丙烯，包装盒材质是纸，使用完毕废弃时按照医疗废弃物相关规定处理，由使用者自行负责处理；
5. 不同批号的产品请勿混合使用，请在有效期内使用试剂盒，由于操作不当引起的误判，以及由此误判引发的其他事项，本公司概不负责。

【生产企业】

企业名称：广东环凯微生物科技有限公司

生产地址：广州市科学城神舟路 788 号

销售热线：020-32078333-8602

技术热线：020-32078333-8877、8876

传真号码：020-32078333-8619

邮政编码：510663

企业网址：<http://www.huankai.com>

【说明书修改时间】

2017 年 12 月 7 日

图 1 阳性对照反应产物

注：“M”表示 DNA marker；
“bont E”表示肉毒梭菌 E 型毒素基因阳性对照结果；
“bont F”表示肉毒梭菌 F 型毒素基因阳性对照结果；
所涉及的基因扩增产物长度分别为：
➤ *bont E* 360 bp；
➤ *bont F* 1137 bp。

