

特异性基因 PCR 检测引物

1、 AFF-I-2

AFF-I-2: 5'-CAGTCAGGAAAGTGGGAAAGC-3'

AFF-I-2: 5'-AGGTCTGTATAGTGCCGTCTG-3'

2、 Stx2-2

Stx2-2: 5'-GACAACGGACAGCAGTTATACC-3'

Stx2-2: 5'-CCACTCTGACACCATCCTCTC-3'

PCR反应体系:

10 X PCR buffer (25mM Mg ²⁺)	3 μ l
上游引物 (5μM)	0.1 μ l
下游引物 (5μM)	0.1 μ l
dNTPs(20mM)	0.1 μ l
Taq DNA聚合酶 (5 U / μ l)	0.2 μ l
DNA模板	2 μ l
dH ₂ O	24.5 μ l
总反应体系	30μ l

PCR反应条件:

95℃	5min	
95℃	30sec	} 30 cycles
55-62℃	30sec	
72℃	30sec	
72℃	5min	

PCR反应产物大小:

358 bp (AAF_I-2)

338 bp (stx2-2)

PCR产物用1.5%-2%琼脂糖凝胶电泳，EB染色后凝胶成像系统观察和记录结果。

如果PCR扩增产物阳性，最终确定是否是H4血清型血清学验证和/或PCR产物测序。