

# 隐孢子虫通用 PCR 试剂盒

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

咨询 QQ : 2881498726

订购热线 : 021 - 54720761

咨询电话 : 13166274233(微信同号)

## 产品及特点:

隐孢子虫(Cryptosporidium spp.)为体积微小的球虫类寄生虫。广泛存在多种脊椎动物体内,寄生于人和大多数哺乳动物的主要为微小隐孢子虫,由微小隐孢子虫引起的疾病称隐孢子虫病,是一种以腹泻为主要临床表现的人畜共患性原虫病。病程可迁延数月至 1 年。病人常并发肠外器官隐孢子虫病,如呼吸道和胆道感染,使得病情更为严重复杂。隐孢子虫感染常为 AIDS 病人并发腹泻而死亡的原因。因此快速准确诊断隐孢子虫具有重要意义。

为此本公司基于 PCR 原理开发了本产品,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,只扩增隐孢子虫通用,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 | 隐孢子虫通用 PCR 引物混合液                             | 100 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂四 | 隐孢子虫通用 PCR 阳性对照 ( $1 \times 10^8$ / $\mu$ L) | 50 $\mu$ L (黄盖)  |
| 试剂五 | 使用手册                                         | 1 份              |

### 运输及保存:

低温运输,  $-20^{\circ}\text{C}$  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 DNA。

### 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

隐孢子虫通用 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 |
| 隐孢子虫通用 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 (隐孢子虫通用 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。

**所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。**