



# 隐孢子虫通用 PCR 试剂盒

## 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 $\times$ 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,  $-20^{\circ}\text{C}$  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  $10\mu\text{L}$

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 ( $40\mu\text{L}$ 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 $20\mu\text{L}$	$20\mu\text{L}$	$20\mu\text{L}$
隐孢子虫通用 PCR 引物混合液	各 $2\mu\text{L}$	$2\mu\text{L}$	$2\mu\text{L}$
$N+2$ 个样品 DNA 模板	各 $18\mu\text{L}$	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	$18\mu\text{L}$	--
PCR 阳性对照 (隐孢子虫通用 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	$18\mu\text{L}$

4. 按下表设置 PCR 反应:



过程	温度	时间
预变性	95°C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95°C	30 sec
	55°C	30 sec
	72°C	40 sec
最后延伸	72°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。

**上海纪宁实业有限公司([www.shjning.com](http://www.shjning.com))所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**