



# 利什曼原虫通用 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：

利什曼原虫 (*Leishmania* spp) 泛指利什曼虫属的锥体虫科原虫，是一种会引起利什曼病的寄生虫。利什曼原虫的主要宿主为脊椎动物，常见的感染对象包括蹄兔目、啮齿目、犬科、和人类。目前全世界有 88 个国家报告过利什曼原虫症的病例，感染人数达 1,200 万人。对人和哺乳动物致病的利什曼原虫有：引起人体内脏利什曼病的为杜氏利什曼原虫 (*Leishmania donovani*)，引起皮肤利什曼病的为热带利什曼原虫 (*L. tropica*) 和墨西哥利什曼原虫 (*L. mexicana*)，引起粘膜皮肤利什曼病的为巴西利什曼原虫 (*L. braziliensis*) 等。我国的黑热病是由杜氏利什曼原虫引起的。因此快速检测利什曼原虫具有重要意义。

本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测利什曼原虫通用的试剂盒，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，只扩增利什曼原虫通用，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	利什曼原虫通用 PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	利什曼原虫通用 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 $^{\circ}$ 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 利什曼原虫通用 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
利什曼原虫通用 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 (利什曼原虫通用 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。

### 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！

