

# 利什曼原虫通用 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](https://www.qq.com)

订购热线 : [021 - 54720761](tel:021-54720761)

咨询电话 : [13166274233](tel:13166274233)(微信同号)

## 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,  $-20^{\circ}\text{C}$ 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

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。

**所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**