

# 新生隐球菌 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:

新生隐球菌 (Cryptococcus neoformans) 是深部感染真菌中隐球菌属的主要菌种之一，种类较多，广泛分布于自然界，例如受动物污染的土壤，检出率较高。由于肿瘤及化疗药物的使用、艾滋病的流行、移植术后免疫抑制药物的使用等原因，新生隐球菌的发病率越来越高，在国外已成为艾滋病患者常见的并发症之一，也是导致患者死亡的重要原因，在我国新生隐球菌的发病率也呈逐年增加的趋势，因此快速检测新生隐球菌具有重要意义。

本产品是根据 PCR 原理开发检测新生隐球菌的试剂盒，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，只扩增新生隐球菌，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	新生隐球菌 PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	新生隐球菌 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 新生隐球菌 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
新生隐球菌 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 (新生隐球菌 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。**