



卡氏肺孢子虫 PCR 试剂盒

产品及特点:

卡氏肺孢子虫 (*Pneumocystis carinii*) 简称肺孢子虫, 广泛存在于人和其他哺乳动物的肺组织内, 可引起肺孢子虫性肺炎, 或称肺孢子虫病。卡氏肺孢子虫为一种威胁人类健康的机会致病寄生虫。卡氏肺孢子虫寄生于鼠、犬、猪、羊、兔等和人的肺上皮细胞中引起的寄生虫病, 因此快速灵敏检测卡氏肺孢子虫具有重要意义。本产品是根据 PCR 原理开发的卡氏肺孢子虫检测试剂盒, **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, 只扩增卡氏肺孢子虫, 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 μ 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 | 卡氏肺孢子虫 PCR 引物混合液 | 100 μ L (白盖) |
| 试剂四 | 卡氏肺孢子虫 PCR 阳性对照 (1 \times 10E8 / μ L) | 50 μ L (黄盖) |
| 试剂五 | 使用手册 | 1 份 |



运输及保存:

低温运输, -20°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 $10\mu\text{L}$ 卡氏肺孢子虫 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 $20\mu\text{L}$ | $20\mu\text{L}$ | $20\mu\text{L}$ |
| 卡氏肺孢子虫 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 (卡氏肺孢子虫 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 μ 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)所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。