



# 无浆体(无形体)通用 PCR 试剂盒

## 产品及特点:

人粒细胞无形体病 (Human granulocytic anaplasmosis, HGA) 是由嗜吞噬细胞无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*) 感染人末梢血中性粒细胞引起, 以发热伴白细胞、血小板减少和多脏器功能损害为主要临床表现的蜱传疾病。该病严重威胁从事农牧业、野外作业以及旅游人群。因缺乏典型临床表现, 易误诊, 容易导致患者多器官受累, 病死率增加。早期诊断及鉴别诊断是防治该病的重要措施。

本产品就是基于嗜吞噬细胞无形体独特的 *msp2* 基因开发的 PCR 诊断试剂盒, **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, 只扩增无浆体(无形体)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	无浆体(无形体)通用 PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂四	无浆体(无形体)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°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 无浆体(无形体)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
无浆体(无形体)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 (无浆体(无形体)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°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。**