

天
净
沙
系
列

CAT#:13-66050
低温运输, -20℃保存

BINGENE

克氏锥虫 PCR 试剂盒

Trypanosoma cruzi PCR Kit

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点

克氏锥虫 (*Trypanosoma cruzi*) 是锥虫属的一种原生生物, 又译枯氏锥虫, 属人体粪源性锥虫, 是克氏锥虫病, 或称恰加斯病的病原体。锥虫病是一种人兽共患病, 也是一种重要的热带寄生虫病, 主要流行于非洲和南美洲。锥虫病严重者可累及神经系统, 部分患者还可迅速恶化, 导致死亡。因此快速准确检测克氏锥虫具有重要的意义。本产品就是根据 PCR 原理开发的、专门检测克氏锥虫的 PCR 试剂盒。它具有以下特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供样品 DNA 模板。
2. 产品经过精心优化, 分析灵敏性能到达 1000 拷贝/反应。
3. 提供阳性对照, 便于排除假阴性实验。
4. 特异性高, 引物是根据克氏锥虫 DNA 高度保守区设计, in silico 分析发现它只能检测克氏锥虫, 不会跟除此之外的其他生物的 DNA 发生交叉反应。
5. 本产品足够 50 次 20 μ L 体系的常规 PCR 反应。
6. 本产品只能用于定性实验, 不能用于定量实验。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2 \times PCR MasterMix (电泳法)	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
克氏锥虫 PCR 引物混合液	yw13-66050	100 μ L	0.5 mL 白盖管
克氏锥虫 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc66050-AY520036	250 μ L	0.5 mL 黄盖管
使用手册	13-66050sc	1 份	无

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 DNA。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 如果有 N 个样品, 必须设置 N+2 个提取, 多出的一个是 PC (样品制备阳性对照), 一个是 NC (样品制备阴性对照)。可以用试剂盒提供的 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L) 作为制备的阳性对照, 直接用水作为制备的阴性对照。
2. 用自选方法纯化样品的 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数核酸纯化试剂盒兼容。也可以选用本公司的相关的核酸提取试剂盒。

二、设置 PCR 反应 (20 μ 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：

成分	N+2 个 样品管	PCR 阴性 对照管	PCR 阳性 对照管
2×PCR MasterMix (电泳法)	各 10 μL	10 μL	10 μL
克氏锥虫 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-
PCR 阴性对照 (超纯水)	-	8 μL	-
克氏锥虫 PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	-	-	8 μL

4. 按下表设置 PCR 反应：

过程	温度	时间
预变性	95℃	5 min
PCR 反应 (35 个循环)	95℃	30 sec
	55℃	30 sec
	72℃	60 sec
最后延伸	72℃	10 min

三、电泳检测

- 取 10uL 扩增产物进行常规琼脂糖电泳，检测扩增效果，由于扩增产物较短，建议用 1.5%-2.0%的琼脂糖凝胶。
- 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 XXXbp。如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照）有此扩增产物，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析实验结果。如果所有样品和 PCR 阳性对照均无此扩增产物，则说明有系统性的问题（试剂，设备，程序，操作等），需要重复并排查原因。
- 如果没有上述两种情况，则实验有效，可以分析样品的扩增结果。N+2 个样品中扩增产物的判断为阳性，无则判定为阴性。

关联产品

克氏锥虫可视化 LAMP 扩增试剂盒