



利什曼原虫通用 PCR 试剂盒

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 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	利什曼原虫通用 PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	利什曼原虫通用 PCR 阳性对照 (1×10^8 / 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℃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 μ 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 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：

成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
PCR Magic Mix 3.0	各 20 μ L	20 μ L	20 μ L
利什曼原虫通用 PCR 引物混合液	各 2 μ L	2 μ L	2 μ L



N+2 个样品 DNA 模板	各 18 μ L	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18 μ L	--
PCR 阳性对照 (利什曼原虫通用 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18 μ 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 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。

