



## 新孢子虫通用 PCR 试剂盒

### 产品及特点：

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，只扩增新孢子虫通用，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 $\mu$ 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 | 新孢子虫通用 PCR 引物混合液                            | 100 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂四 | 新孢子虫通用 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 $^{\circ}$ 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. 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 新孢子虫通用 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 $\mu$ 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 |
| 新孢子虫通用 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 (新孢子虫通用 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 $^{\circ}$ 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。

**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。**