

天
净
沙
系
列

CAT#:13-18400
低温运输，-20℃保存

BINGENE

鲤春病毒 RT-PCR 检测试剂盒

SVCV RT-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	鲤春病毒(Spring Viraemia of Carp Virus , SVCV)是一种 RNA 病毒，根据其结构蛋白组分可把该病毒列入水泡性口炎类。目前研究证明 SVC 病毒只有一种血清型。该病毒引起鲤春病毒病，本病是一种急性出血性传染性病毒病，常在鲤科鱼特别是在鲤鱼中流行。该病通常于春季暴发并引起幼鱼和成鱼死亡，给渔民造成重大损失，因此快速灵敏诊断鲤春病毒具有重要意义。本产品就是以 RT-PCR 技术为基础开发的专门检测鲤春病毒的试剂盒，它具有下列特点： 1. 即开即用，用户只需要提供样品 RNA 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，便于区分假阴性样品。 4. 特异性高，引物是根据鲤春病毒 RNA 高度保守区设计，只能检测鲤春病毒，不会跟除此之外的其他生物的 RNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 体系的 RT-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	<table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>五孔盒包装</th></tr><tr><td>2×RT-PCR Buffer</td><td>91202a</td><td>500 μL (本色管)</td></tr><tr><td>RT-PCR 酶混合液</td><td>91202b</td><td>50 μL (红盖管)</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>210806</td><td>1 mL (蓝盖管)</td></tr><tr><td>鲤春病毒 RT-PCR 引物混合液</td><td>yw13-18400</td><td>100 μL (白盖管)</td></tr><tr><td>鲤春病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td><td>Pc13-18400</td><td>250 μL (黄盖管)</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-18400sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成 份	编 号	五孔盒包装	2×RT-PCR Buffer	91202a	500 μL (本色管)	RT-PCR 酶混合液	91202b	50 μL (红盖管)	超纯水	210806	1 mL (蓝盖管)	鲤春病毒 RT-PCR 引物混合液	yw13-18400	100 μL (白盖管)	鲤春病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	Pc13-18400	250 μL (黄盖管)	使用手册	13-18400sc	1 份	注：为避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供专一的 DNA 片段作为阳性对照。如果需要 RNA 片段作为阳性对照的需要单独定	
成 份	编 号	五孔盒包装																						
2×RT-PCR Buffer	91202a	500 μL (本色管)																						
RT-PCR 酶混合液	91202b	50 μL (红盖管)																						
超纯水	210806	1 mL (蓝盖管)																						
鲤春病毒 RT-PCR 引物混合液	yw13-18400	100 μL (白盖管)																						
鲤春病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	Pc13-18400	250 μL (黄盖管)																						
使用手册	13-18400sc	1 份																						

	制。																												
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。																												
自备试剂	样品 RNA																												
使用方法	一、样品 RNA 的制备 1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取反应，多出的两个中一个是 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用 10μL 本试剂盒提供的 RT-PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）再加上一定量的水作为制备的阳性对照（加水后其总体积跟样品一样，样品体积多少取决于所用试剂盒的要求）。可以用水作为制备的阴性对照。 2. 用自选方法纯化上述 N+2 个样品的 RNA。本试剂盒跟市场上大多数样品 RNA 提取试剂盒兼容，也可以选用本公司的相关的核酸提取试剂盒。 二、设置 RT-PCR 反应（20μL 体系） 3. 标记 N+4 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 RNA 样品，额外增加的两个管一个用于 RT-PCR 阳性对照，另一个用于 RT-PCR 阴性对照。按照下表在各 PCR 管中加入下列成分： <table><tr><th>成份</th><th>N+2 个 样品管</th><th>RT-PCR 阴 性对照</th><th>RT-PCR 阳 性对照</th></tr><tr><td>2×RT-PCR Buffer</td><td>各 10 μL</td><td>10 μL</td><td>10 μL</td></tr><tr><td>鲤春病毒 RT-PCR 引物混合液</td><td>各 2 μL</td><td>2 μL</td><td>2 μL</td></tr><tr><td>制备的 N+2 个 RNA 样品</td><td>各 7 μL</td><td>不加</td><td>不加</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>不加</td><td>7 μL</td><td>不加</td></tr><tr><td>鲤春病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td><td>不加</td><td>不加</td><td>7 μL</td></tr><tr><td>RT-PCR 酶混合液</td><td>1 μL</td><td>1 μL</td><td>1 μL</td></tr></table>	成份	N+2 个 样品管	RT-PCR 阴 性对照	RT-PCR 阳 性对照	2×RT-PCR Buffer	各 10 μL	10 μL	10 μL	鲤春病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL	制备的 N+2 个 RNA 样品	各 7 μL	不加	不加	超纯水	不加	7 μL	不加	鲤春病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL	RT-PCR 酶混合液	1 μL	1 μL	1 μL
成份	N+2 个 样品管	RT-PCR 阴 性对照	RT-PCR 阳 性对照																										
2×RT-PCR Buffer	各 10 μL	10 μL	10 μL																										
鲤春病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL																										
制备的 N+2 个 RNA 样品	各 7 μL	不加	不加																										
超纯水	不加	7 μL	不加																										
鲤春病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL																										
RT-PCR 酶混合液	1 μL	1 μL	1 μL																										

	4. 上机进行 RT-PCR , RT-PCR 反应参数为:	<table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>逆转录</td><td>42℃</td><td>30 分钟</td></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>3 分钟</td></tr><tr><td rowspan="3">PCR 反应 (30 个循环)</td><td>95℃</td><td>15 秒</td></tr><tr><td>55℃</td><td>60 秒</td></tr><tr><td>65℃</td><td>60 秒</td></tr><tr><td>延伸</td><td>72℃</td><td>10 分钟</td></tr></table>	过程	温度	时间	逆转录	42℃	30 分钟	预变性	95℃	3 分钟	PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 秒	55℃	60 秒	65℃	60 秒	延伸	72℃	10 分钟
	过程	温度	时间																		
	逆转录	42℃	30 分钟																		
	预变性	95℃	3 分钟																		
	PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 秒																		
		55℃	60 秒																		
		65℃	60 秒																		
	延伸	72℃	10 分钟																		
	三、电泳分析																				
	5. 取 10uL 扩增产物进行常规琼脂糖电泳 , 检测扩增效果 , 根据扩增产物长度 , 建议用 1-1.5%的琼脂糖凝胶电泳。																				
6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 600bp。如果两个阴性对照 (样品制备阴性对照或 RT-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。																					
7. 如果所有样品和 RT-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。																					
8. 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 个样品中有此扩增产物的判断为阳性 , 无则判定为阴性。																					
关联产品	鲤春病毒荧光及可视化 RT-LAMP 检测试剂盒																				