

天
净
沙
系
列

CAT#:13-23730

低温运输, -20℃保存

BINGENE

牛腺病毒 3 型 PCR 检测试剂盒

Bovine Adenovirus(BAV-3) PCR Kit

使用手册 V1.0

北京克必隆分子诊断技术有限公司

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

产品及特点	牛腺病毒 3 型（Bovine Adenovirus Type 3, BAV-3），主要引起牛的呼吸道和肠道疾病，其主要特征为肺炎、肠炎、结膜炎和多发性关节炎，是犊牛死亡的重要原因之一。其易感和潜伏性给畜牧业及其国际贸易带来严重的经济损失。此外牛血清的质量控制标准中有一项重要的指标是病毒的检测，其中就有 BAV-3，因为它能给细胞培养带来干扰。因此灵敏快捷地检测牛腺病毒 3 型具有重要的意义。本产品就是为满足此需求而开发的、专门检测牛腺病毒 3 型的 PCR 试剂盒，它具有下列特点： 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 100 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，引物是根据牛腺病毒 3 型 DNA 高度保守区设计，<i>in silico</i> 分析发现它只能检测牛腺病毒 3 型，不会跟除此之外的其他病毒的 DNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 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	<table><tr><th>成 份</th><th>编号</th><th>五孔盒包装</th></tr><tr><td>PCR MagicMix 3.0</td><td>90805</td><td>500μL（红盖）</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>100935</td><td>1mL（紫盖）</td></tr><tr><td>牛腺病毒 3 型 PCR 引物混合液</td><td>yw13-23730</td><td>100μL（白盖）</td></tr><tr><td>牛腺病毒 3 型 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)</td><td>pc23730</td><td>50μL（黄盖）</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-23730sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成 份	编号	五孔盒包装	PCR MagicMix 3.0	90805	500μL（红盖）	超纯水	100935	1mL（紫盖）	牛腺病毒 3 型 PCR 引物混合液	yw13-23730	100μL（白盖）	牛腺病毒 3 型 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)	pc23730	50μL（黄盖）	使用手册	13-23730sc	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	
成 份	编号	五孔盒包装																			
PCR MagicMix 3.0	90805	500μL（红盖）																			
超纯水	100935	1mL（紫盖）																			
牛腺病毒 3 型 PCR 引物混合液	yw13-23730	100μL（白盖）																			
牛腺病毒 3 型 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)	pc23730	50μL（黄盖）																			
使用手册	13-23730sc	1 份																			

	的 DNA 片段作为阳性对照。																								
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 DNA																								
使用方法	一、样品 DNA 的制备																								
	1. 如果有 N 个病毒样品，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）。可以用试剂盒提供的牛腺病毒 3 型 PCR 阳性对照（1×10E7 拷贝/μL，本试剂盒提供）用水稀释 1000 倍后得到的稀释液（（1×10E4 拷贝/μL）10uL 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体积一样，样品体积多少取决于所用试剂盒的要求）。可以直接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 DNA。本试剂盒跟市场上大多数病毒 DNA 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 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 DNA 样品，额外增加的两个管一个用于 PCR 阳性对照，另一个用于 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>PCR 阴性对照</th><th>PCR 阳性对照</th></tr><tr><td>PCR MagicMix 3.0</td><td>各 10μL</td><td>10μL</td><td>10μL</td></tr><tr><td>牛腺病毒 3 型 PCR 引物混合液</td><td>各 2μL</td><td>2μL</td><td>2μL</td></tr><tr><td>制备的 N+2 个 DNA 样品</td><td>各 8μL</td><td>不加</td><td>不加</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>不加</td><td>8μL</td><td>不加</td></tr><tr><td>第 1 步所得牛腺病毒 3 型 PCR 阳性</td><td>不加</td><td>不加</td><td>8μL</td></tr></table>	成份	N+2 个 样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照	PCR MagicMix 3.0	各 10μL	10μL	10μL	牛腺病毒 3 型 PCR 引物混合液	各 2μL	2μL	2μL	制备的 N+2 个 DNA 样品	各 8μL	不加	不加	超纯水	不加	8μL	不加	第 1 步所得牛腺病毒 3 型 PCR 阳性	不加	不加	8μL
成份	N+2 个 样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照																						
PCR MagicMix 3.0	各 10μL	10μL	10μL																						
牛腺病毒 3 型 PCR 引物混合液	各 2μL	2μL	2μL																						
制备的 N+2 个 DNA 样品	各 8μL	不加	不加																						
超纯水	不加	8μL	不加																						
第 1 步所得牛腺病毒 3 型 PCR 阳性	不加	不加	8μL																						

	对照稀释液（1×10E4 拷贝/μL）																			
	4. 上机进行 PCR，PCR 反应参数为：																			
	<table><tr><td>过程</td><td>温度</td><td>时间</td></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>5 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>30 秒</td></tr><tr><td>72℃</td><td>30 秒</td></tr><tr><td>延伸</td><td>72℃</td><td>10 分钟</td></tr></table>				过程	温度	时间	预变性	95℃	5 分钟	PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 秒	55℃	30 秒	72℃	30 秒	延伸	72℃	10 分钟
	过程	温度	时间																	
	预变性	95℃	5 分钟																	
	PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 秒																	
		55℃	30 秒																	
		72℃	30 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，由于扩增产物较短，建议用 1.5%-2.0%的琼脂糖凝胶。																			
6. 如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或 PCR 阴性对照）有扩增产物，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。																				
7. 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																				
牛腺病毒 3 型 PCR 检测试剂盒																				