

天
净
沙
系
列

CAT#:13-60300
低温运输, -20℃保存

BINGENE

犬流感病毒 PCR 检测试剂盒

Canine Influenza Virus (CIV) 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	犬流感病毒 (Canine Influenza Virus,CIV)属于正粘病毒科，由各种甲型流感病毒引起，如马流感病毒 H3N8。主要传播途径为空气传播。该病毒于 2004 年被发现能引起犬流感。犬对这类病毒没有天生的免疫能力。因此，该传染病可能迅速地在犬只间传播，主要引起呼吸道症状，比较严重的犬流感症状表现为：高烧，呼吸频率加快，以及一些其他类似肺炎的症状。因此快速灵敏诊断犬流感病毒具有重要意义。本产品就是为满足此需求而开发的、专门检测犬流感病毒的 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 E3 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，引物是根据犬流感病毒 DNA 高度保守区设计，<i>in silico</i> 分析发现它只能检测犬流感病毒，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	成 份	编号	五孔盒包装
	PCR MagicMix 3.0	90805	500μL（红盖）
	超纯水	100935	1mL（紫盖）
	犬流感病毒 PCR 引物混合液	yw13-60300	100μL（白盖）
	犬流感病毒 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)	pc60300	50μL（黄盖）
	使用手册	13-60300sc	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。		
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犬流感病毒 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（ 1×10^4 拷贝/ μL ）10 μL 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（20 μL 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：

成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
PCR MagicMix 3.0	各 10 μL	10 μL	10 μL
犬流感病毒 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
制备的 N+2 个 DNA 样品	各 8 μL	不加	不加
超纯水	不加	8 μL	不加
第 1 步所得犬流感病毒 PCR 阳性对照稀释液（ 1×10^4 拷贝/ μL ）	不加	不加	8 μL

4. 上机进行 PCR，PCR 反应参数为：

过程	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}\text{C}$	5 分钟
PCR 反应 (30 个循环)	95 $^{\circ}\text{C}$	15 秒
	55 $^{\circ}\text{C}$	30 秒
	72 $^{\circ}\text{C}$	30 秒
延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	10 分钟

三、电泳分析

5. 取 10 μL 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	犬流感病毒 PCR 检测试剂盒
------	-----------------

20210831dx