

天
净
沙
系
列

CAT#:13-60800

低温运输, -20℃保存

BINGENE

EB 病毒电泳法 PCR 试剂盒

Epstein Barr Virus 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	EB 病毒 (Epstein-Barr Virus, EBV, EB 病毒) 又叫人疱疹病毒 4 型 (Human Herpesvirus 4, HHV-4), 它是疱疹病毒科嗜淋巴细胞病毒属的成员, 基因组为 DNA。EB 病毒具有在体内外专一性地感染人类及某些灵长类 B 细胞的生物学特性。人是 EB 病毒感染的宿主, 主要通过唾液传播。无症状感染多发生在幼儿, 3~5 岁幼儿 90% 以上曾感染 EB 病毒, 90% 以上的成人都有病毒抗体。EB 病毒是传染性单核细胞增多症的病原体, 此外 EB 病毒与鼻咽癌、儿童淋巴瘤的发生有密切相关性, 被列为可能致癌的人类肿瘤病毒之一。 本产品就是专门用于快速检测 EBV 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 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 EB 病毒 DNA 高度保守区设计, in silico 分析发现它只能检测 EB 病毒, 不会跟除此之外的其他生物的 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	本产品使用五孔盒包装			
	成 份	编号	规格	包装
	2 $\times$ PCR MasterMix (电泳法)	990805	0.5 mL	0.5 mL 本色管
	超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
	EB 病毒 PCR 引物混合液	yw13-60800	100 μ L	0.5 mL 白盖管
	EB 病毒 PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ μ L)	pc13-60800	250 μ L	0.5 mL 黄盖管
	使用手册	13-60800sc	1 份	无
运输及保存	低温运输, -20 $^{\circ}$ C 保存, 保存期限为一年。EBV PCR 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. 如果要制备 N 个样品的核酸, 则需要做 N+2 个核酸样品制备, 包括一个样品制备阳性对照和一个样品制备阴性对照。可以用 10μL 本试剂盒提供的阳性对照 (1$\times$10E4 拷贝/μL) 加水作为核酸制备的阳性对照, 加水后的总体积必须跟核酸制备试剂盒所要求的起始样本体积一致。直接用水作			

	为制备的阴性对照。 2. 用自选方法纯化样品的 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. 对 N+2 个样品，在 PCR 时需要增加一个 PCR 阴性对照（用水）和一个 PCR 阳性对照，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： <table><tr><th>成分</th><th>N+2 个样品管</th><th>PCR 阴性对照管</th><th>PCR 阳性对照管</th></tr><tr><td>2×PCR MasterMix（电泳法）</td><td>各 10 μL</td><td>10 μL</td><td>10 μL</td></tr><tr><td>EB 病毒 PCR 引物混合液</td><td>各 2 μL</td><td>2 μL</td><td>2 μL</td></tr><tr><td>N+2 个样品 DNA 模板</td><td>各 8 μL</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td>PCR 阴性对照（水）</td><td>-</td><td>8 μL</td><td>-</td></tr><tr><td>EB 病毒 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）</td><td>-</td><td>-</td><td>8 μL</td></tr></table> 4. 按下表设置 PCR 反应： <table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>2 min</td></tr><tr><td rowspan="2">PCR 反应（35 个循环）</td><td>91℃</td><td>15 sec</td></tr><tr><td>58℃</td><td>60 sec</td></tr><tr><td>最后延伸</td><td>72℃</td><td>10 min</td></tr></table> 三、电泳检测 5. 取 10μL 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%的琼脂糖凝胶。 6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 96bp。如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或 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。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。	成分	N+2 个样品管	PCR 阴性对照管	PCR 阳性对照管	2×PCR MasterMix（电泳法）	各 10 μL	10 μL	10 μL	EB 病毒 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL	N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-	PCR 阴性对照（水）	-	8 μL	-	EB 病毒 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	8 μL	过程	温度	时间	预变性	95℃	2 min	PCR 反应（35 个循环）	91℃	15 sec	58℃	60 sec	最后延伸	72℃	10 min
成分	N+2 个样品管	PCR 阴性对照管	PCR 阳性对照管																																				
2×PCR MasterMix（电泳法）	各 10 μL	10 μL	10 μL																																				
EB 病毒 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL																																				
N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-																																				
PCR 阴性对照（水）	-	8 μL	-																																				
EB 病毒 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	8 μL																																				
过程	温度	时间																																					
预变性	95℃	2 min																																					
PCR 反应（35 个循环）	91℃	15 sec																																					
	58℃	60 sec																																					
最后延伸	72℃	10 min																																					
关联产品	EBV 可视化 LAMP 扩增试剂盒																																						