

天
净
沙
系
列

CAT#:13-73901
低温运输, -20℃保存

BINGENE

锦鲤疱疹病毒 *Sph* 基因 PCR 试剂盒
Koi Herpesvirus *Sph* 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	<p>锦鲤疱疹病毒（Koi herpesvirus），简称 KHV，又名鲤鱼肾炎及鳃坏疽病毒。国将鲤鱼肾炎及鳃坏疽其列为二类动物疫病，是世界动物卫生组织（OIE）必须申报的疾病。因此对锦鲤疱疹病毒进行快速灵敏的诊断具有重要的意义。</p> <p>本产品就是为此目的、根据 PCR 原理开发的产品，针对锦鲤疱疹病毒聚合酶基因(<i>Sph</i>)进行 PCR 检测。它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none">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，只扩增锦鲤疱疹病毒 <i>Sph</i> 基因。3. 检测灵敏度在 1000 拷贝/反应左右。4. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。5. PCR mix 中含上样染料，PCR 后可以直接上样电泳。6. 本试剂盒足够做 20μL 体系的 PCR 50 次。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	0.5mL（本色管）
	超纯水	210806	1 mL（蓝盖管）
	锦鲤疱疹病毒 <i>Sph</i> 基因 PCR 引物混合液	yw13-73901	100 μL（白盖管）
	锦鲤疱疹病毒 <i>Sph</i> 基因 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	pc60908-73901	250 μL（黄盖管）
	使用手册	13-73901sc	1 份
运输及保存	低温运输，-20℃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	<p>一、样品 DNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none">1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取，多出的一个是 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 本试剂盒提供的阳性对照再加上一定量的水使总体积跟试剂盒要求的起始样品体积一样，以此作为 PC。另外用水作为 NC。2. 用自选方法纯化样品的 DNA 和两个对照。本试剂盒跟市场上大多数病毒 DNA 提取试剂盒兼容。 <p>二、设置 PCR 反应（40 μL 体系）</p> <ol style="list-style-type: none">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：		

	成分	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															
	锦鲤疱疹病毒 <i>Sph</i> 基因 PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL															
	N+2 个样品 DNA 模板	各 8 μL	-	-															
	超纯水	-	8 μL	-															
	锦鲤疱疹病毒 <i>Sph</i> 基因 PCR 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	8 μL															
	4. 按下表设置 PCR 反应：																		
<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 min</td></tr><tr><td rowspan="3">PCR 反应 (35 个循环)</td><td>95℃</td><td>15 sec</td></tr><tr><td>63℃</td><td>15 sec</td></tr><tr><td>72℃</td><td>60 sec</td></tr><tr><td>最后延伸</td><td>72℃</td><td>10 min</td></tr></table>				过程	温度	时间	预变性	95℃	5 min	PCR 反应 (35 个循环)	95℃	15 sec	63℃	15 sec	72℃	60 sec	最后延伸	72℃	10 min
过程	温度	时间																	
预变性	95℃	5 min																	
PCR 反应 (35 个循环)	95℃	15 sec																	
	63℃	15 sec																	
	72℃	60 sec																	
最后延伸	72℃	10 min																	
三、电泳检测																			
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%的琼脂糖凝胶。																			
6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 526bp。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。																			
关联产品	锦鲤疱疹病毒 <i>Sph</i> 基因染料法 qPCR 试剂盒																		