

天
净
沙
系
列

CAT#:13-73902
低温运输, -20℃保存

BINGENE

锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 试剂盒

Koi Herpesvirus TK Gene 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

<p>产品及特点</p>	<p>锦鲤疱疹病毒 (<i>Koi herpesvirus</i>)，简称 KHV。因其主要是由 DNA 类疱疹滤过性病毒感染所引起，又名鲤鱼肾炎及鳃坏疽病毒，亚洲地区于 2004 年也被报导感染锦鲤疱疹病毒。我国将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，其中 TK 基因是常用的靶基因。本产品就是为此目的根据 PCR 原理开发的产品，针对 TK 基因进行 PCR 检测的试剂盒。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，引物是根据锦鲤疱疹病毒 TK 基因 DNA 高度保守区设计，<i>in silico</i> 分析发现它只能检测锦鲤疱疹病毒 TK 基因，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。 																								
<p>规格及成分</p>	<p style="text-align: center;">本产品使用五孔盒包装</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 40%;">成 份</th> <th style="width: 15%;">编 号</th> <th style="width: 15%;">规 格</th> <th style="width: 30%;">包 装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2\timesPCR MasterMix (电泳法)</td> <td>90805</td> <td>0.5 mL</td> <td>0.5 mL 本色管</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>210806</td> <td>1 mL</td> <td>1.5 mL 蓝色管</td> </tr> <tr> <td>锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 引物混合液</td> <td>yw13-73902</td> <td>100 μL</td> <td>0.5 mL 白色管</td> </tr> <tr> <td>锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 阳性对照 (1\times10E4 拷贝/μL)</td> <td>pc60908-73902</td> <td>250 μL</td> <td>0.5 mL 黄色管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-73902sc</td> <td>1 份</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	成 份	编 号	规 格	包 装	2 \times PCR MasterMix (电泳法)	90805	0.5 mL	0.5 mL 本色管	超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝色管	锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 引物混合液	yw13-73902	100 μ L	0.5 mL 白色管	锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc60908-73902	250 μ L	0.5 mL 黄色管	使用手册	13-73902sc	1 份	
成 份	编 号	规 格	包 装																						
2 \times PCR MasterMix (电泳法)	90805	0.5 mL	0.5 mL 本色管																						
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝色管																						
锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 引物混合液	yw13-73902	100 μ L	0.5 mL 白色管																						
锦鲤疱疹病毒 TK 基因 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μ L)	pc60908-73902	250 μ L	0.5 mL 黄色管																						
使用手册	13-73902sc	1 份																							
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20$^{\circ}$C 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。</p>																								
<p>自备试剂</p>	<p>样品 DNA。</p>																								
<p>使用方法</p>	<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 PCR 阳性对照 (1\times10E4 拷贝/μL) 加水作为样本制备的阳性对照，加水后总体积必须跟样本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。

- 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)

- 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
2 \times PCR MasterMix (电泳法)	各 10 μL	10 μL	10 μL
锦鲤疱疹病毒 TK 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 TK 基因 PCR 阳性对照 (1 \times 10E4 拷贝/ μL)	-	-	8 μL

- 按下表设置 PCR 反应：

过程	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}\text{C}$	5 min
PCR 反应 (35 个循环)	95 $^{\circ}\text{C}$	15 sec
	63 $^{\circ}\text{C}$	15 sec
	72 $^{\circ}\text{C}$	60 sec
最后延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	10 min

三、电泳检测

- 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% 的琼脂糖凝胶。
- 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 90bp。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，程序等），需要重复并排查原因。
- 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 TK 基因染料法荧光定量 PCR 试剂盒