

天
净
沙
系
列

CAT#:15-42220
低温运输, -20℃保存

BINGENE

猪托克特诺病毒 2 型探针法 qPCR 试剂盒

Torque Teno Sus Virus Type 2 Probe 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: 400-6605850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	猪托克特诺病毒 2 型 (Torque Teno Sus Virus Type 2, TTSuV-2, 又叫 Torque Teno Sus Virus 1b)是一种新型环状单链 DNA 病毒, 又称之为猪细小病毒 2 型。TTSuV2 属于 Kappatorquevirus 病毒属, 可以感染健康或患病的猪群。TTSuV2 在骨髓, 纵隔淋巴结和肝组织中有较高的病毒载量。TTSuV2 在猪群中的感染情况及潜在的致病性成为研究的热点, 因此快速灵敏诊断猪托克特诺病毒 2 型具有重要意义。本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测猪托克特诺病毒 2 型的试剂盒, 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. 引物和探针经过优化, 分析灵敏性高, 可以达到 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, 引物是根据猪托克特诺病毒 2 型 DNA 高度保守区设计, 不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。 5. 既可用于定性检测, 又可用于定量检测。用于定量检测时线性范围至少为 5 个数量级。 6. 本产品足够 50 次 20μL 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。 7. 本产品只能用于科研。			
规格及成分	本产品采用 5 孔盒包装			
	成分	编号	规格	包装材料
	2×Probe qPCR MasterMix	981201	0.5 mL	0.5mL 本色管
	荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5mL 绿盖管
	超纯水	100935	1 mL	1.5mL 蓝盖管
	猪托克特诺病毒 2 型 qPCR 引物-探针混合液	yp15-42220y	150 μL	0.5mL 棕色管
	猪托克特诺病毒 2 型 qPCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL)	pd42220y-ych	50 μL	0.5mL 黄盖管
	使用手册	15-42220ysc	1 份	无
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、稀释标准曲线样品（以 10E1-10E6 拷贝/μL 这 6 个 10 倍稀释度为例）。由于标准品浓度非常高，因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行，千万不能污染样品或本试剂盒的其他成分）。为增加产品稳定性和避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供无传染性的 DNA 片段作为阳性对照。
1. 标记 6 个离心管，分别为 6，5，4，3，2，1。
 2. 用带芯枪头分别加入 45 μL 荧光 PCR 专用模板稀释液，最好用带芯枪头，下同）。
 3. 在 6 号管中加入 5 μL 1×10E7 拷贝/μL 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E6 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
 4. 换枪头，在 5 号管中加入 5 μL 1×10E6 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E5 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
 5. 换枪头，在 4 号管中加入 5 μL 1×10E5 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E4 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
 6. 重复上面的操作直到得到 6 个稀释度的标准曲线样品。放冰上待用。
- 二、样品 DNA 的制备
7. 如果有 N 个样品，最好设置 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 上步所得 4 号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次制备要求的体积一样，以此作为 PC。另外用水作为 NC。
 8. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的免提取核酸释放剂。
- 三、Probe qPCR 反应（20μL 体系，在样品制备室进行）
9. 如果做定量分析并且只做 1 次重复，则标记 N+9 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 PCR 阴性对照（用水做模板），6 个用于标准曲线。如果做定性分析并且只做 1 次重复，则标记 N+4 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 PCR 阴性对照（用水做模板），1 个用于 PCR 阳性对照（直接用第 6 步第 4 号管的阳性对照稀释液做模板）。下面只以定量分析为例描述操作步骤。
 10. 在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复。样品管和阴性对照设置完毕后才设置阳性对照，并且阳性对照样品要等所有管子盖上盖子储存好后最后加）：

成分	样品管	PCR 阴性	标准曲线样品管
----	-----	--------	---------

