

CAT#:15-54100

低温运输, -20℃保存

BINGENE

小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 试剂盒

Mouse Hepatitis Virus Probe qRT-PCR Kit

使用手册 V1.1

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	小鼠肝炎病毒(MouseHepatitisVirus，MHV)是一种 RNA 病毒，病毒存在于血液和内脏，特别是肝和肾，也见于粪尿中，对幼鼠有高度的传染性，小鼠肝炎是由 MHV 所致的 1 种特有的传染病，带毒小鼠分布于全世界，但在正常情况下大多呈不显性感染，只在应激因素激发下才能成为致死性疾病，主要为肝炎和脑炎，因此小鼠肝炎病毒的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用。本产品就是以探针法荧光定量 RT-PCR 技术为基础开发的专门检测小鼠肝炎病毒的试剂盒，它具有下列特点： 1. 即开即用，用户只需要提供样品 RNA 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，引物是根据小鼠肝炎病毒高度保守区设计，不会跟其他病毒的 RNA 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 各数量级。 6. 本产品足够 50 次 20μL 体系的探针法 qRT-PCR 反应。 7. 本产品只能用于科研。																												
规格及成分	本产品采用五孔盒包装 <table><tr><th>成分</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>探针法 qRT-PCR 缓冲液</td><td>990504a</td><td>500 μL</td><td>0.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2</td><td>990504bv2</td><td>50 μL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td><td>180701</td><td>1 mL</td><td>1.5 mL 绿盖管</td></tr><tr><td>小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 引物-探针干粉</td><td>yp15-54100</td><td>50 次</td><td>0.5mL 棕色管</td></tr><tr><td>小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL)</td><td>pc54100-FJ64</td><td>50 μL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>15-54100sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table> 注意：引物-探针干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 162uL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。	成分	编号	规格	包装材料	探针法 qRT-PCR 缓冲液	990504a	500 μL	0.5mL 蓝盖管	探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	990504bv2	50 μL	0.5mL 红盖管	荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5 mL 绿盖管	小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 引物-探针干粉	yp15-54100	50 次	0.5mL 棕色管	小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL)	pc54100-FJ64	50 μL	0.5mL 黄盖管	使用手册	15-54100sc	1 份	无
成分	编号	规格	包装材料																										
探针法 qRT-PCR 缓冲液	990504a	500 μL	0.5mL 蓝盖管																										
探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	990504bv2	50 μL	0.5mL 红盖管																										
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5 mL 绿盖管																										
小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 引物-探针干粉	yp15-54100	50 次	0.5mL 棕色管																										
小鼠肝炎病毒探针法 qRT-PCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL)	pc54100-FJ64	50 μL	0.5mL 黄盖管																										
使用手册	15-54100sc	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 RNA。																												

使用方法

一、稀释 PCR 阳性对照（以 10E2-10E6 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 45μL 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 5μL1×10E7 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 5μL1×10E6 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 5μL1×10E5 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。放冰上用。

二、样品 RNA 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核酸制备试剂盒所要求的起始样本体积一样，以此作为 PC。另外用水作为 NC。
- 8. 用自选方法纯化样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数 RNA 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、ProbeqRT-PCR 反应（20 μ L 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（用第 4 号管中的阳性对照稀释液做模板）。下面只以定量分析为描述操作步骤，
- 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 N+2 个	PCR 阴性 对照管	PCR 阳性 对照管（2-6 管）
探针法 qRT-PCR 缓冲液	10μL	10μL	各 10μL
探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	各 1μL	2μL	各 1μL

