

天
净
沙
系
列

CAT#:13-16200
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

脑心肌炎病毒 RT-PCR 检测试剂盒

Encephalomyocarditis Virus RT-PCR Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	脑心肌炎病毒 (Encephalomyocarditis Virus, EMCV) 在分类上属小 RNA 病毒科，心肌病毒属，是一种无囊膜的单股正链 RNA 病毒。由 EMCV 引起的猪脑心肌炎是猪的一种以脑炎、心肌炎或心肌周围炎为主要特征的急性传染病，给养猪业造成了极大的经济损失。本产品适用于检测猪血清、脑、心肌以及淋巴结等组织标本或病毒培养液中 EMCV 的 mRNA，适用于 EMCV 感染的辅助诊断。它具有下列特点： 1. 一站式，用于不需要单独准备每种成分，包括引物和对照。 2. 根据 EMCV 的保守基因序列设计的引物，具有良好的特异性。 3. 灵敏度可以达到 1000 拷贝/反应。 4. 使用一管式 RT-PCR 技术，RT 和 PCR 两步在一个试管内完成，不需要中间转移样品，降低了操作误差和可能的污染。 5. 本产品足够 50 次 30uL 体系的 RT-PCR。 6. 本产品只能用于科研，不能用于临床。																										
规格及成分	<table><tr><th>成 份</th><th>编号</th><th>十孔盒包装</th></tr><tr><td>2×双酶一管式 RT-PCR Buffer</td><td>91202a</td><td>750 uL（黄盖）</td></tr><tr><td>MMLV-Taq Mix</td><td>91202b</td><td>100 uL（红盖）</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>100935</td><td>1 mL（本色盖）</td></tr><tr><td>EMCV RT-PCR 引物混合液</td><td>13-16200yw</td><td>各 0.5 OD（白盖）</td></tr><tr><td>EMCV PCR 阳性对照</td><td>13-16200pc</td><td>50 uL（黄盖）</td></tr><tr><td>RNA 病毒裂解液（试用装）</td><td>3073a</td><td>10mL</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-16200sc</td><td>1 份</td></tr></table> 注：为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 EMCV 专一的 DNA 片段作为阳性对照。			成 份	编号	十孔盒包装	2×双酶一管式 RT-PCR Buffer	91202a	750 uL（黄盖）	MMLV-Taq Mix	91202b	100 uL（红盖）	超纯水	100935	1 mL（本色盖）	EMCV RT-PCR 引物混合液	13-16200yw	各 0.5 OD（白盖）	EMCV PCR 阳性对照	13-16200pc	50 uL（黄盖）	RNA 病毒裂解液（试用装）	3073a	10mL	使用手册	13-16200sc	1 份
成 份	编号	十孔盒包装																									
2×双酶一管式 RT-PCR Buffer	91202a	750 uL（黄盖）																									
MMLV-Taq Mix	91202b	100 uL（红盖）																									
超纯水	100935	1 mL（本色盖）																									
EMCV RT-PCR 引物混合液	13-16200yw	各 0.5 OD（白盖）																									
EMCV PCR 阳性对照	13-16200pc	50 uL（黄盖）																									
RNA 病毒裂解液（试用装）	3073a	10mL																									
使用手册	13-16200sc	1 份																									
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。收到货后阳性对照需要跟其他成分分开放置，因为其容易污染其他成分，造成假阳性。																										
自备试剂	样品 RNA																										
使用方法	一、样品 RNA 的制备 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 11.5μL EMCV PCR 阳性对照的 10000 倍稀释的（稀释后浓度为 1×10E4 拷贝/μL，10μL 相当于 1																										

万拷贝，可以将 10uL 原液加入到 990uL 自备 TE 溶液中，充分混匀，此为 100 倍稀释液。再取 10uL 此稀释液加入到 990uL 自备 TE 溶液中，充分混匀，此为 10000 倍稀释液) 再加上一定量的水作为制备的阳性对照（加水后其总体积跟样品一样，样品体积多少取决于所用试剂盒的要求）。可以用水作为制备的阴性对照。制备所得成为样品 RNA。

2. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数病毒 RNA 提取试剂盒兼容。本试剂盒免费赠送 15 次 RNA 病毒裂解液试用装（一管式病毒 RNAout 的成分），其使用手册可以从本公司网站 www.tiandz.com，通过搜索产品名称一管式病毒 RNAout 或产品编号 3073 下载。

二、设置 RT-PCR 反应（30uL 体系）

3. 如果有 N+2 个样品，则标记 N+4 个 PCR 管（额外增加的两个管一个是 RT-PCR 阳性对照，另一个是 RT-PCR 阴性对照）并按照下表在 PCR 管中加入下列成分：

成份	样品（N+2 个）	RT-PCR 阳性对照	RT-PCR 阴性对照
2×双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 15 uL	15 uL	15 uL
EMCV RT-PCR 引物混合液	各 2 uL	2 uL	2 uL
样品 RNA（N+2 个）	11.5 uL	不加	不加
EMCV RT-PCR 阳性对照 10000 倍稀释液	不加	11.5 uL	不加
MMLV-Taq Mix	1.5 uL	1.5 uL	1.5 uL

4. 上机进行 RT-PCR，RT-PCR 反应参数为：

过程	温度	时间
逆转录	42℃	30 分钟
预变性	94℃	2 分钟
PCR 反应 (35 个循环)	94℃	30 秒
	56℃	30 秒
	72℃	30 秒
延伸	72℃	5 分钟

5. 琼脂糖电泳检测扩增效果，阳性样品预期得到的扩增产物长度为 286bp。如果阴性对照有此扩增产物或阳性对照无此扩增产物，则说明实验失败，需要

	分析实验失败的原因。只有在阴性对照没有此扩增产物、阳性对照有此扩增产物的情况下，才有必要分析样品的实验结果，如果有此扩增产物则为阳性，如果无则为阴性。
关联产品	脑心肌炎病毒可视化 RT-LAMP 检测试剂盒