

克
必
隆
系
列

CAT#:13-57300
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

小反刍兽疫病毒 RT-PCR 试剂盒

Peste des Petits Ruminants 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

<p>产品及特点</p>	<p>小反刍兽疫(Peste des Petits Ruminants, PPR)是由副黏病毒科麻疹病毒属的小反刍兽疫病毒(Peste des Petits Ruminants Virus, PPRV) 引起的急性、烈性传染病。它是世界动物卫生组织(OIE)法定的 A 类传染病,我国将其定为 I 类动物疫病。本产品就是专门用于小反刍兽疫病毒的快速荧光 RT-PCR 检测的试剂盒,在动物或者动物产品的检测领域有广泛用途,它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用,用户只需要提供病毒 RNA 模板。 2. 双酶一管式 RT-PCR,操作简单快捷。本试剂盒足够 25 次 30uL 体系的 RT-PCR 反应。 3. 提供阳性对照,便于在遇到问题时分析原因。 4. 引物经过优化,特异性高,引物是根据 PPR 病毒保守的 N 基因设计,产物长度为 1416 bp。 																											
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="485 768 1361 1267"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编 号</th> <th>25 次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>双酶一管式 RT-PCR Buffer, 2×</td> <td>91202A</td> <td>375 uL</td> </tr> <tr> <td>MMLV-Taq Mix</td> <td>91202B</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>RNase-free 水</td> <td>80403</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>PPRV 专一性引物一</td> <td>YW315-1</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>PPRV 专一性引物二</td> <td>YW316-1</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>PPRV 阳性对照</td> <td>100946</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td colspan="2">1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成 份	编 号	25 次包装	双酶一管式 RT-PCR Buffer, 2×	91202A	375 uL	MMLV-Taq Mix	91202B	50 uL	RNase-free 水	80403	1 mL	PPRV 专一性引物一	YW315-1	50 uL	PPRV 专一性引物二	YW316-1	50 uL	PPRV 阳性对照	100946	50 uL	使用手册	1 份	
成 份	编 号	25 次包装																										
双酶一管式 RT-PCR Buffer, 2×	91202A	375 uL																										
MMLV-Taq Mix	91202B	50 uL																										
RNase-free 水	80403	1 mL																										
PPRV 专一性引物一	YW315-1	50 uL																										
PPRV 专一性引物二	YW316-1	50 uL																										
PPRV 阳性对照	100946	50 uL																										
使用手册	1 份																											
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输,-20℃保存,保存期限为 6 个月。</p>																											
<p>自备试剂</p>	<p>样品 RNA。</p>																											
<p>使用方法</p>	<p>注意:所有离心管用前最好全部短暂离心几秒使管壁上溶液沉淀到管底。下面以一个 30uL 体系的 RT-PCR 为例,如果体积不同,各成分用量需要适当调节。</p> <p>一、样品 RNA 的制备</p> <p>1、用自选方法抽提病毒样品 RNA。注意:可以选用本公司生产的一管式病毒 RNAout 或柱式病毒 RNAout。</p> <p>二: RT-PCR</p> <p>2、在一干净的无 RNase 的 PCR 管中,按下表配制 RT-PCR 反应体系 (30 uL 体系):</p> <table border="1" data-bbox="437 1872 1458 2121"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>样品管</th> <th>阳性对照管</th> <th>阴性对照管</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>RNA 模板 (自备)</td> <td>1-10 uL</td> <td>无</td> <td>无</td> </tr> <tr> <td>PPRV 阳性对照</td> <td>无</td> <td>2uL</td> <td>无</td> </tr> <tr> <td>PPRV 专一性引物一</td> <td>2 uL</td> <td>2 uL</td> <td>2 uL</td> </tr> </tbody> </table>				成份	样品管	阳性对照管	阴性对照管	RNA 模板 (自备)	1-10 uL	无	无	PPRV 阳性对照	无	2uL	无	PPRV 专一性引物一	2 uL	2 uL	2 uL								
成份	样品管	阳性对照管	阴性对照管																									
RNA 模板 (自备)	1-10 uL	无	无																									
PPRV 阳性对照	无	2uL	无																									
PPRV 专一性引物一	2 uL	2 uL	2 uL																									

PPRV 专一性引物二	2 uL	2 uL	2 uL
RNase-free 水	补水到 13 uL		
双酶一管式 RT-PCR Buffer	15 uL	15 uL	15 uL
MMLV-Taq Mix	2 uL	2 uL	2 uL

3、轻柔混合均匀后放入 PCR 仪中进行 RT-PCR，反应参数是：

过程	温度	时间
逆转录	42℃	60 min
预变性	94℃	5 min
PCR 反应 (35 个循环)	94℃	1 min
	55℃	1 min
	72℃	2 min
最后延伸	72℃	10 min

三、电泳检测

4、取 10-20 uL PCR 产物直接在 1%琼脂糖凝胶上电泳，正确的扩增产物的大小为 1416 bp。阳性对照必须出现 1416bp 的 PCR 产物，否则 PCR 体系有问题，需要寻找原因。如果阴性对照出现 1416bp 的 PCR 产物，则说明试剂或环境中过去 PCR 产物的污染，需要把样品制备和 RT-PCR 隔离进行。

关联产品

小反刍兽疫病毒荧光 RT-PCR 检测试剂盒 (CAT#: 11-PPR)