

天
净
沙
系
列

CAT#:14-57300
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

小反刍兽疫病毒荧光 RT-PCR 试剂盒

Peste des Petits Ruminants Virus qRT-PCR Kit

使用手册 V1.1

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. 两管式 RT-PCR, 一次 RT 反应产物可以作为多次 PCR 的模板。本试剂盒提供 5 次的 20 uL 体系的 RT 反应试剂和 25 次的 50 uL 体系的荧光 PCR 试剂。 3. 使用 RNase H 已经突变的 SuperMMLV 逆转录酶, 减少了 RT 过程中 RNA 的降解。 4. 使用热启动的 Taq DNA 聚合酶, 降低了非特异性扩增。 5. 荧光定量检测, 所含 SYBR Green I 只与双链 DNA 结合, 反应特异性强。适用于不需要 ROX 做校正染料的荧光 PCR 仪。 6. 产品的有效线性范围广, 定量更加准确。 7. 引物经过优化, 特异性高, 引物是根据保守的 N 基因设计, 产物长度为 1416 bp。 																														
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="550 1084 1323 1630"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编 号</th> <th>25 次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SuperMMLV 逆转录酶</td> <td>60906A</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>RT Buffer (含 dNTP)</td> <td>60906B</td> <td>125 uL</td> </tr> <tr> <td>2×荧光 PCR Mix</td> <td>90408</td> <td>625 uL</td> </tr> <tr> <td>阳性对照(XXng/uL)</td> <td>100946</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>PPR 专一引物一</td> <td>YW315-1</td> <td>50 uL</td> </tr> <tr> <td>PPR 专一引物二</td> <td>YW315-2</td> <td>60 uL</td> </tr> <tr> <td>RNase-free 水</td> <td>80403</td> <td>1 mL</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	SuperMMLV 逆转录酶	60906A	50 uL	RT Buffer (含 dNTP)	60906B	125 uL	2×荧光 PCR Mix	90408	625 uL	阳性对照(XXng/uL)	100946	50 uL	PPR 专一引物一	YW315-1	50 uL	PPR 专一引物二	YW315-2	60 uL	RNase-free 水	80403	1 mL	使用手册	1 份	
成 份	编 号	25 次包装																													
SuperMMLV 逆转录酶	60906A	50 uL																													
RT Buffer (含 dNTP)	60906B	125 uL																													
2×荧光 PCR Mix	90408	625 uL																													
阳性对照(XXng/uL)	100946	50 uL																													
PPR 专一引物一	YW315-1	50 uL																													
PPR 专一引物二	YW315-2	60 uL																													
RNase-free 水	80403	1 mL																													
使用手册	1 份																														
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输, -20℃避光保存, 有效期为 6 个月。</p>																														
<p>自备试剂</p>	<p>样品 RNA。</p>																														
<p>使用方法</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 (逆转录) 反应合成 cDNA</p> <p>2、按下表配制 RT 反应体系 (20 uL 体系):</p>																														

成分	用量
RNA 模板(自备)	由于一般不知病毒 RNA 浓度,用 1-10 uL 即可
PPR 专一性引物二	2 uL
RNase-free 水	补水到 13 uL
70°C 保温 5 分钟变性模板后立即冰浴。	
RT Buffer(含 dNTP)	5 uL
37°C 保温 5 分钟	
SuperMMLV 逆转录酶	2 uL
42°C 保温 60 分钟。此步为 RT 反应。	
70°C 保温 10 分钟以终止反应,然后放置在冰上待用。合成的 cDNA 可以直接作为 PCR 模板使用,不需要纯化。	

三、荧光 PCR (50 uL 体系)

3、在 PCR 管中加入下列成分(注:做多少阳性对照稀释度由客户自己决定。拷贝数可以通过浓度和长度计算而得。本阳性对照长度为 1416bp):

成分	样品管	阳性对照(1-8 管)	阴性对照
2 × qPCR Mix	25 uL	25 uL	25 uL
cDNA 样品 (上步的 RT 反应液)	1-5 uL	无	无
阳性对照(可以稀释 1-8 个梯度)	无	1-8 个稀释度	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
补水到	50 uL		

4、PCR 反应参数 (以 ABI7500 荧光定量 PCR 仪为参考):

过程	温度	时间
预变性(此步用于活化热启动 Taq 聚合酶)	95°C	10 min
PCR 反应 (35-40 个循环)	94°C	1 min
	55°C	1 min
	72°C	2 min
融解曲线分析	95°C	15 s
	60°C	1 min
	95°C	15 s

			60°C	15 s
	5、 根据阳性对照梯度的 Ct 值和浓度描出标准曲线，用于计算样品的浓度。			
关联产品	100946 小反刍兽 RT-PCR 检测试剂盒 (CAT#: 100946)			