

天恩泽系列

CAT#:15-46200

低温运输，-20℃保存

TIANDZ

BK 病毒探针法荧光定量 PCR 试剂盒

BK Virus Probe qPCR Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区西二旗智学苑配套商业用房 B 座二层 212 室

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

产品及特点

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 BK 病毒的

	<p>试剂盒，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。 2. 引物和探针经过优化，灵敏性高。 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 BK 病毒 DNA 高度保守区设计，不会跟其他微生物的 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。 																
<p>格及成分</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>190303</td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>180701</td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>100935</td> </tr> <tr> <td>D</td> <td>15-46200yp</td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>46200pc</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>15-46200sc</td> </tr> </tbody> </table>	成分	编号	A	190303	B	180701	C	100935	D	15-46200yp	E	46200pc	使用手册	15-46200sc	
成分	编号																
A	190303																
B	180701																
C	100935																
D	15-46200yp																
E	46200pc																
使用手册	15-46200sc																
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20$^{\circ}$C 保存，保存期限为 12 个月。</p>																
<p>自备试剂</p>	<p>样品 DNA。</p>																
<p>使用方法</p>	<p>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。</p> <ol style="list-style-type: none"> 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\times10E7 拷贝/μL 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，得 1\times10E6 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\times10E6 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所 																

- 得),充分震荡 1 分钟,得 1×10^5 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 $5 \mu\text{L}$ 1×10^5 拷贝/ μL 的阳性对照(上步稀释所得),充分震荡 1 分钟,得 1×10^4 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 个样品待提取,最好设置 N+2 个提取,多出的是 PC (样品制备阳性对照) 和 NC (样品制备阴性对照)。可以取阳性对照的 1000 倍稀释液 $10 \mu\text{L}$ 再加上一一定量的水,使总体积与待提取样品的规定体积一致,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 DNA 提取试剂盒兼容。

三、Probe qPCR 反应 (20 μL 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/每管	样品管 N+2 个	PCR 阴性 对照管	标准曲线 样品管 (1-6 管)
A	10 μL	10 μL	10 μL
D	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA 模板	7 μL	-	-
C	-	7 μL	-
第 6 步所得标准曲线样品稀释液 (1-6 号)	-	-	7 μL (1 号样到 1 号管,2 号样到 2 号管...)

11. 盖上盖子后上机,按下面参数进行 PCR:

过程	温度	时间
----	----	----

预变性	95℃	10 min
PCR 反应 (45 个循环)	95℃	15 sec
	60℃	60 sec (采集 FAM 通道的荧光信号)

四、数据处理

12. 如果把本试剂盒用于定量检测，则以阳性对照浓度的 log 值为横轴，以 Ct 值为纵轴，绘制标准曲线。再以待测样品的 Ct 值从标准曲线上推算出样品核酸浓度的 log 值，再推算出其浓度。
13. 如果把本试剂盒用于定性检测，只判断阳性或阴性，则阴性对照 Ct 必须大于或等于 40。阳性对照必须有荧光对数增长，有典型扩增曲线，Ct 值应该小于或等于 39。对待测样品，如果其 Ct 大于或等于 40 则为阴性，如果小于或等于 39 则为阳性。如果在 39-40 之间，则重复一次。重复实验的 Ct 值如果大于或等于 40 则为阴性，如果小于 40，则为阳性。

关联产品

BK 病毒染料法荧光定量 PCR 试剂盒

20211228wt