

水痘-带状疱疹病毒探针法荧光定量PCR试剂盒 Varicella-Zoster Virus Probe qPCR Kit

货号: BN65151

低温运输, -20℃保存

产品及特点

水痘-带状疱疹病毒 (Varicella-Zoster Virus, VZV) 属人类疱疹病毒 α 亚科, 又称人类疱疹病毒3型 (Human Herpes Virus Typs 3, HHV-3) 是水痘和带状疱疹的病原体, 其基因组为线性双链DNA分子, 长约124884bp。是一种儿童初次感染引起水痘, 恢复后病毒潜伏在体内, 少数病人在成人后病毒再发而引起带状疱疹的病毒。水痘是具有高度传染性的儿童常见疾病, 多发于2~6岁, 传染源主要是患者, 患者急性期水痘内容物及呼吸道分泌物内均含有病毒。曾患过水痘的病人引起带状疱疹后, 初期局部皮肤有异常感, 搔痒、疼痛, 进而出现红疹、疱疹, 串连成带状, 病程约3周左右, 少数可达数月之久, 还有可能出现脑脊髓炎和眼结膜炎等并发症。该病毒对人体健康有长期潜在危害, 因此水痘-带状疱疹病毒的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用, 为此本公司开发了简单快捷的水痘-带状疱疹病毒探针法荧光定量PCR检测试剂盒, 它具有下列特点:

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, 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, 引物是根据水痘-带状疱疹病毒DNA高度保守区设计, 不会跟其他细菌的DNA发生交叉反应。
5. 涵盖性广, 尤其是能检查危害人类健康的几种水痘-带状疱疹病毒。
6. 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。
7. 本产品足够50次20 μ L体系的探针法荧光定量PCR反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2 \times Probe qPCR MasterMix	60001	500 μ L	0.5 mL

本产品仅用于科研

荧光PCR专用模板稀释液	60002	1mL	1.5mL
超纯水	60003	1 mL	1.5 mL
水痘-带状疱疹病毒qPCR引物-探针干粉	65151-4	50 次	1.5 mL
水痘-带状疱疹病毒qPCR阳性对照(1E7拷贝/μL)	65151-5	50 μL	0.5 mL
使用手册		1份	无

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165μL的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为24个月。

自备试剂

超纯水，样品DNA。

使用方法

一、稀释标准曲线样品（以1E1-1E6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5μL1E7拷贝/μL的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡1分钟，得1E6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5μL1E6拷贝/μL的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡1分钟，得1E5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5μL1E5拷贝/μL的阳性对照(上步所得)，充分震荡1分钟，得1E4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，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每次制备要求的体积一样，以此作为PC。
8. 用自选方法纯化样品的DNA，本试剂盒跟市场上大多数样品DNA 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、Probe qPCR 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 (直接用第6步第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+3个	RT-PCR 阴性对照	标曲样品管 (1-6)
2 \times Probe qPCR MasterMix	各10 μ L	10 μ L	各10 μ L
水痘-带状疱疹病毒 qPCR 引物-探针混合液	各3 μ L	3 μ L	各3 μ L
待测样本DNA模板	7 μ L	不加	不加
超纯水	不加	7 μ L	不加
第6步所得标准曲线样品稀 释液 (1-6号)	不加	不加	各7 μ L (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 $^{\circ}$ C	5 min
PCR反应 (37个循环)	95 $^{\circ}$ C	15 sec
	60 $^{\circ}$ C	1min (采集FAM通道, 淬灭基团为TAMRA)

四、数据处理

12. 如果样本制备阳性对照或PCR阳性对照(包括标曲样本)结果为阴性, 则整个实验无效, 不需要分析数据, 需要重新样本制备, 重新进行PCR扩增或跟厂

家联系。如果样本制备阴性对照或PCR阴性对照结果为阳性，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系。

13. 如果阴性对照和阳性对照均正常，则实验有效，可以进入后续分析。
14. 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DNA浓度的log值，再推算出其浓度。
15. 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必须等于或者大于35，或者没有Ct值。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35。对待测样品，如果其Ct小于35则为阳性。如果在大于或等于35则为阴性。