

山羊痘病毒探针法qPCR试剂盒

Goat Pox Virus Probe qPCR Kit

CAT#: BN62757

低温运输, -20℃保存

产品及特点

山羊痘病毒 (Goat Pox Virus, GPV) 为痘病毒科山羊痘病毒属成员, 为双链DNA病毒, 基因组DNA大小约为145 kb。病毒粒子呈砖形或卵圆形, 有囊膜。山羊痘病毒感染引起山羊痘, 以体温升高、全身性丘疹或结节、水泡(少数)、内脏病变(特别是肺脏)乃至死亡为特征。因此快速检测山羊痘病毒具有重要的意义。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山羊痘病毒的试剂盒, 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, 分析灵敏度高, 可以达到100拷贝/μL。
3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。
4. 特异性高, 引物是根据山羊痘病毒DNA高度保守区设计, 不会跟其他生物的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20 μL体系的探针法荧光定量PCR反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	五孔盒包装
2×Probe qPCR MasterMix	60001	0.5 mL	0.5 mL
荧光PCR 专用模板稀释液	60002	1 mL	1.5 mL
超纯水	60003	1 mL	1.5 mL
山羊痘病毒 qPCR引物-探针干粉	62757-4	50次	0.5 mL
山羊痘病毒qPCR 阳性对照(1E7拷贝/μL)	62757-5	50 μL	50 mL
使用手册		1份	1份

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165 μL的超纯水充分混匀后再使用, 未用完的需要-20℃保存。

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为12个月。
自备试剂	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 1E7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5 μL 1E6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5 μL 1E5拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，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10 μL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。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 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（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+2个	PCR阴性 对照	标准曲线样品管 (1-6管)
2×Probe qPCR MagicMix	各10 μL	10 μL	各10 μL
山羊痘病毒qPCR 引物-探针混合液	各3 μL	3 μL	各3 μL
N+2个待测DNA样本	各7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	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 μL (2号样 到2号管, 3号样 到3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℃	3 min
PCR反应 (45个循环)	95℃	15 sec
	60℃	30 sec (采集FAM通道的荧光信号, 设置BHQ1为淬灭基团)

五、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DNA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, 则阴性对照必须无Ct或者大于或等于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40, 否则实验无效。如果实验有效, 则分析待测样品, 如果无Ct或者大于或等于40则为阴性, 如果Ct小于40则为阳性。