

天
净
沙
系
列

CAT#:13-83700
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

新型布尼亚病毒 RT-PCR 试剂盒

Novel Bunyavirus 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12号北京市留学人员海淀创业园中关村发展大厦D405

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

产品及特点	新型布尼亚病毒，卫生部门从蜱虫中毒者体内分离出的病毒。或将被认定为一种新型病毒。从目前来看，这一病毒主要由蜱传播，且可以治疗，病死率很低。目前未发现人传染人的病例。布尼亚病毒自然感染见于许多脊椎动物和节肢动物(蚊、蜱、白蛉等)，可感染小鼠，并能在一些哺乳类、鸟类和蚊细胞培养中生长；对人可引起类似流感或登革热的疾病、出血热(立夫特谷热和克里米亚—刚果出血热等)及脑炎(加利福尼亚脑炎)。有蚊媒、蜱媒、白蛉媒 3 种传播类型。本公司开发了本产品，可用于在科研领域快速定量检测新型布尼亚病毒。它具有下列特点： 1. 一站式，用户不需要单独准备每种成分，包括引物 and 对照。 2. 根据新型布尼亚病毒的保守基因序列设计的引物，具有良好的特异性。 3. 灵敏度可以达到 1000 拷贝/反应。 4. 使用一管式 RT-PCR 技术，RT 和 PCR 两步在一个试管内完成，不需要中间转移样品，降低了操作误差和可能的污染。 5. 本产品足够 50 次 20μL 体系的 RT-PCR。 6. 本产品只能用于科研，不能用于临床。																							
规格及成分	<table><tr><th>成 份</th><th>编号</th><th>十孔盒包装</th></tr><tr><td>5×双酶一管式 RT-PCR Buffer</td><td>91202a</td><td>200 μL (橘黄盖)</td></tr><tr><td>MMLV-Taq Mix</td><td>91202b</td><td>75 μL (红盖)</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>100935</td><td>1 mL (亮黄盖)</td></tr><tr><td>新型布尼亚病毒 RT-PCR 引物混合液</td><td>13-83700yw</td><td>100 μL (白盖)</td></tr><tr><td>新型布尼亚病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E8 拷贝/μL)</td><td>60908-83700pc</td><td>50 μL (黄盖)</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-83700sc</td><td>1 份</td></tr></table> 注：为避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供专一的 DNA 片段作为阳性对照。			成 份	编号	十孔盒包装	5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	91202a	200 μL (橘黄盖)	MMLV-Taq Mix	91202b	75 μL (红盖)	超纯水	100935	1 mL (亮黄盖)	新型布尼亚病毒 RT-PCR 引物混合液	13-83700yw	100 μL (白盖)	新型布尼亚病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E8 拷贝/μL)	60908-83700pc	50 μL (黄盖)	使用手册	13-83700sc	1 份
成 份	编号	十孔盒包装																						
5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	91202a	200 μL (橘黄盖)																						
MMLV-Taq Mix	91202b	75 μL (红盖)																						
超纯水	100935	1 mL (亮黄盖)																						
新型布尼亚病毒 RT-PCR 引物混合液	13-83700yw	100 μL (白盖)																						
新型布尼亚病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E8 拷贝/μL)	60908-83700pc	50 μL (黄盖)																						
使用手册	13-83700sc	1 份																						
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。收到货后阳性对照需要跟其他成分分开放置，因为其容易污染其他成分，造成假阳性。																							
自备试剂	样品 RNA																							
使用方法	一、样品 RNA 的制备 1. 如果有 N 个样品，必须设置 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 新型布尼亚病毒 PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液作为制备的阳性对照。可以用水作为制备的																							

	阴性对照。制备所得成为样品 RNA。 2. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数病毒 RNA 提取试剂盒兼容。可以选购本公司的柱式病毒 RNAout，其使用手册可以在本公司网站 www.tiandz.com 上输入产品名称或产品编号 71001-50 下载。 二、设置 RT-PCR 反应（20μL 体系） 3. 如果有 N+2 个样品，则标记 N+4 个 PCR 管（额外增加的两个管一个是 RT-PCR 阳性对照，另一个是 RT-PCR 阴性对照）并按照下表在 PCR 管中加入下列成分： <table><tr><th>成份</th><th>N+2 个样品管</th><th>RT-PCR 阴性对照</th><th>RT-PCR 阳性对照</th></tr><tr><td>5×双酶一管式 RT-PCR Buffer</td><td>各 4 μL</td><td>4 μL</td><td>4 μL</td></tr><tr><td>新型布尼亚病毒 RT-PCR 引物混合液</td><td>各 2 μL</td><td>2 μL</td><td>2 μL</td></tr><tr><td>N+2 个制备的 RNA 样品</td><td>各 12.5 μL</td><td>-</td><td>-</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>-</td><td>12.5 μL</td><td>-</td></tr><tr><td>新型布尼亚病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液</td><td>-</td><td>-</td><td>12.5 μL</td></tr><tr><td>MMLV-Taq Mix</td><td>1.5 μL</td><td>1.5 μL</td><td>1.5 μL</td></tr></table> 4. 上机进行 RT-PCR，RT-PCR 反应参数为： <table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>逆转录</td><td>42℃</td><td>30 min</td></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>5 min</td></tr><tr><td rowspan="3">PCR 反应 (35 个循环)</td><td>95℃</td><td>30 sec</td></tr><tr><td>58℃</td><td>30 sec</td></tr><tr><td>72℃</td><td>20 sec</td></tr><tr><td>延伸</td><td>72℃</td><td>7 min</td></tr></table> 5. 琼脂糖电泳检测扩增效果。如果阴性对照有扩增产物或阳性对照无扩增产物，则说明实验失败，需要分析实验失败的原因。只有在阴性对照没有扩增产物、阳性对照必须有预期条带出现，才有必要分析样品的实验结果，如果有预期片段大小的扩增产物则为阳性，如果无则为阴性。	成份	N+2 个样品管	RT-PCR 阴性对照	RT-PCR 阳性对照	5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 μL	4 μL	4 μL	新型布尼亚病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL	N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 μL	-	-	超纯水	-	12.5 μL	-	新型布尼亚病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	-	-	12.5 μL	MMLV-Taq Mix	1.5 μL	1.5 μL	1.5 μL	过程	温度	时间	逆转录	42℃	30 min	预变性	95℃	5 min	PCR 反应 (35 个循环)	95℃	30 sec	58℃	30 sec	72℃	20 sec	延伸	72℃	7 min
成份	N+2 个样品管	RT-PCR 阴性对照	RT-PCR 阳性对照																																													
5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 μL	4 μL	4 μL																																													
新型布尼亚病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL																																													
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 μL	-	-																																													
超纯水	-	12.5 μL	-																																													
新型布尼亚病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	-	-	12.5 μL																																													
MMLV-Taq Mix	1.5 μL	1.5 μL	1.5 μL																																													
过程	温度	时间																																														
逆转录	42℃	30 min																																														
预变性	95℃	5 min																																														
PCR 反应 (35 个循环)	95℃	30 sec																																														
	58℃	30 sec																																														
	72℃	20 sec																																														
延伸	72℃	7 min																																														
关联产品	新型布尼亚病毒可视化 RT-LAMP 检测试剂盒																																															