小鼠诺如病毒和小鼠轮状病毒双重 Taq-Man 探针 PCR 试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称: 小鼠诺如病毒和小鼠轮状病毒双重 Taq-Man 探针 PCR 试剂盒

【包装规格】

50 反应/盒 or 100 反应/盒

【预期用途】

用于检测实验动物小鼠诺如病毒 (MNV)和小鼠轮状病毒 (MRV)感染情况。

【检测原理】

本试剂盒针对小鼠诺如病毒和小鼠轮状病毒核酸序列的保守位置设计相应引物探针,探针标记为 MRV: FAM-NFQ, MNV: VIC-NFQ。

【主要组分】

组分名称	装量	
组刀石桥	50 反应/盒	100 反应/盒
TaqMan RT-PCR Buffer Mix (5×)	250μL	500μL
TaqMan Enzyme Mix (10×)	125μL	250μL
ROX Dye	25μL	50μL
引物探针	325μL	650μL
阳性对照	100μL	200μL
阴性对照	100μL	200μL
无 RNA 酶水	0.5mL	1mL

【储存条件及有效期】

阳性对照储藏在-70℃以下,其余组分储藏在-20℃以下,有效期为 1 年。

【适用仪器】

荧光定量 PCR 仪。

【样本要求】

本试剂盒检测对象为实验动物粪便样本的 RNA。

【检验方法】

- 1、取出试剂盒组分,解冻,震荡混匀,快速离心 15 秒待用。
- 2、确定需要准备的反应次数,包括阴性对照。在实际需要的基础上增加1~2次反应,以补偿

移液造成的损失。

3、按照下表配制 荧光定量 PCR 反应混合液

组分名称	体积 (1×)	例: 体积 (20×)
TaqMan RT-PCR Buffer Mix (5×)	5μL	100μL
TaqMan Enzyme Mix (10×)	2.5μL	50μL
ROX Dye	0.5μL	10μL
引物探针	6.25µL	125μL
无 RNA 酶水	6.75µL	135μL
模板	4μL	/
终体积	25μL	/

- 4、 PCR 反应液配制完成后震荡混匀并离心,将反应液按照每孔 21μL 分装到 PCR 反应管或 反应板中。
- 5、 加入被检模板 4μ L,阳性对照和阴性对照(无 RNA 酶水)密封 PCR 管或 PCR 板,短暂 离心后置于仪器中进行 PCR 反应。

反应程序 (用快速模式):

步骤	循环	温度	时间
逆转录	1	53℃	5 分钟
酶激活	1	95℃	20 秒
变性		95℃	3 秒
退火和延伸	5	64℃	27 秒
变性	25	95℃	3 秒
退火和延伸	35	60℃	27 秒(此阶段结束时采集荧光信号)

【检验结果及解释】

阳性对照 Ct 值<30, 且出现典型扩增曲线, 阴性对照无典型扩增曲线, 实验成立。

FAM 通道被检样品 Ct 值≤36,且出现典型扩增曲线,判为小鼠轮状病毒阳性;36<Ct 值≤40 且出现典型扩增曲线,判为可疑,需复检,复检仍出现36<Ct 值≤40,并且曲线有明显的对数增长期,判为阳性;否则判为阴性。

VIC 通道被检样品 Ct 值≤36, 且出现典型扩增曲线, 判为小鼠诺如病毒阳性; 36<Ct 值≤40 且出现典型扩增曲线, 判为可疑, 需复检, 复检仍出现 36<Ct 值≤40, 并且曲线有明显的对数增长期, 判为阳性, 否则判为阴性。

Ct 值为 0 或 Ct 值>40 且无特征性扩增曲线, 判为阴性。

【基本信息】

生产企业名称: 北京云菱生物技术有限公司

生产地址:北京市北京经济技术开发区建安街甲2号

联系方式: 电 话: 010-57047851 传 真: 010-57047999

售后服务单位名称:北京云菱生物技术有限公司

联系方式: 电 话: 15313162012 传 真: 010-57047999

本产品仅供科研使用