
CAT#: GZ01581950



小鼠细小病毒探针法荧光定量 PCR 试剂盒

Mouse Parvovirus (MPV) Probe qPCR Kit

使用手册 V1.0

江苏晨逸京泽生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.cygeneze.com；电话：40001-40007

产品及特点

本公司开发的小鼠细小病毒探针法荧光定量 PCR 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. 引物和探针等组分经过优化，灵敏度高。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据小鼠细小病毒 DNA 高度保守区设计，不会跟其他病毒的 DNA 发生交叉反应。
5. 本产品足够 50 次 20 μ L 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。

成分规格

产品组成	编号	规格
Probe qPCR Custom Mastermix	GZ020702	500 μ L
qPCR template diluent	GZ070404	1 mL
小鼠细小病毒探针法 qPCR 引物混合液	GZ01581950p	100 μ L
小鼠细小病毒 qPCR 探针	GZ01581950pb	50 μ L
小鼠细小病毒探针法 qPCR 阳性对照 (1×10^8 拷贝/ μ L)	GZ01581950pc	50 μ L

保存条件

低温运输，-20 $^{\circ}$ C 保存，保存期限为 12 个月。

使用方法

一、 稀释标准曲线样品（以 10^2 - 10^7 拷贝/ μ L 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 7，6，5，4，3，2。
2. 用带芯枪头分别加入 45 μ L 荧光 PCR 专用模板稀释液，最好用带芯枪头，下同。
3. 在 7 号管中加入 5 μ L 1×10^8 拷贝/ μ L 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，

得 1×10^7 拷贝/ μL 的标准曲线样品。放冰上待用。

4. 换枪头，在 6 号管中加入 $5 \mu\text{L}$ 1×10^7 拷贝/ μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10^6 拷贝/ μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
5. 换枪头，在 5 号管中加入 $5 \mu\text{L}$ 1×10^6 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。
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 10000 倍稀释液 $10 \mu\text{L}$ 再加上一定量的水，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（ $20 \mu\text{L}$ 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（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	样品管 N+2 个	PCR 阴 性 对照管	标准曲线 样品管 (2-7 管)
Probe qPCR Custom Mastermix	$10 \mu\text{L}$	$10 \mu\text{L}$	各 $10 \mu\text{L}$
小鼠细小病毒 qPCR 探针	$1 \mu\text{L}$	$1 \mu\text{L}$	各 $1 \mu\text{L}$
小鼠细小病毒探针法 qPCR 引物 混合液	$2 \mu\text{L}$	$2 \mu\text{L}$	各 $2 \mu\text{L}$
N+2 个待测 DNA 模板	$7 \mu\text{L}$	-	-
超纯水	-	$7 \mu\text{L}$	-
第 7 步所得标准曲线样品 稀释液 (2-7 号)	-	-	各 $7 \mu\text{L}$ (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 (40 个循环)	95℃	15 sec
	60℃	1 min (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 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 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 35。对待测样品，如果其 $Ct \geq 40$ 则为阴性，如果 ≤ 35 则为阳性。如果在 35-40 之间，则重复一次。若重复结果 Ct 值小于 40，扩增曲线有明显起降，该样本判断为阳性，否则为阴性。



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯