

犬呼吸道冠状病毒病毒 RT-PCR 试剂盒

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

咨询 QQ：2881498726

订购热线：021-54720761

咨询电话：13166274233(微信同号)

产品及特点：

1. 一站式，用户不需要单独准备每种成分，包括引物和对照。
2. 根据犬呼吸道冠状病毒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 20 μ L 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：

编号	成分	规格
试剂一	5 $\times$ 双酶一管式 RT-PCR Buffer	200 μ L (橘黄盖)
试剂二	MMLV-Taq Mix	75 μ L (红盖)
试剂三	超纯水	1 mL (亮黄盖)
试剂四	犬呼吸道冠状病毒病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂五	犬呼吸道冠状病毒病毒 RT-PCR 阳性对照(1×10^8 / μ L)	50 μ L (黄盖)
试剂六	使用手册	1 份

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。

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 DNA 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犬呼吸道冠状病毒病毒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。

二、设置 RT-PCR 反应(20 μL 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：

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
犬呼吸道冠状病毒病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2μL	2μL
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5μL	--	--
超纯水	--	12.5μL	--
犬呼吸道冠状病毒病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5μL
MMLV-Taq Mix	1.5 μL	1.5 μL	1.5 μL

4. 上机进行 RT-PCR，RT-PCR 反应参数为：

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°C	30 sec
	58°C	30 sec
	72°C	20 sec
最后延伸	72°C	7 min

三、电泳检测：

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。

所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。