

水痘-带状疱疹病毒 Oka 株探针法 qPCR 试剂盒

Varicella-Zoster Virus Oka Strain Probe PCR Kit

目录号: [ml104461](#)

使 用 说 明 书

产品及特点

水痘-带状疱疹病毒 (Varicella-Zoster Virus) 是一种双链 DNA 病毒, 也被称作人类疱疹病毒 3 型, 主要在人与人之间传播, 传播方式可以是呼吸道传播, 也可以是接触传播, 人是其唯一的宿主。高桥道明 (Michiaki Takahashi) 分离并减毒成功的 Oka 株是全球水痘生产的标准株。因此快速检测水痘-带状疱疹病毒 Oka 株具有重要的意义。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水痘-带状疱疹病毒 Oka 株的试剂盒, 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/反应。
3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。
4. 特异性高, 引物是根据水痘-疱疹病毒 DNA Oka 株高度保守区设计, 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		成分	规格	包装
		2×Probe qPCR MasterMix	0.5 mL	0.5mL 本色管
		荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管
		超纯水	1mL	1.5mL 蓝盖管
		水痘-带状疱疹病毒 Oka 株 qPCR 引物-探针干粉	50 次	1.5mL 棕色管
		水痘-带状疱疹病毒 Oka 株 qPCR 阳性对照(1E7 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 黄盖管
		使用手册	1 份	无
	本产品采用五孔盒包装			
	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 mL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。			
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，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 μ L 1E6 拷贝/ μ L 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1E5 拷贝/ μ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

5. 换枪头，在 4 号管中加入 5 μ L 1E5 拷贝/ μ L 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1E4 拷贝/ μ L 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，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 μ L 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 μ 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（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 MasterMix	各 10 μ L	各 10 μ L	各 10 μ L

	水痘-带状疱疹病毒 Oka 株 qPCR 引物-探针混合液	各 3μL	3μL	各 3μL											
	N+2 个待测 DNA 样本	各 7μL	不加	不加											
	超纯水	不加	7μL	不加											
	第 6 步所得标准曲线样品稀释液（1-6 号）	不加	不加	各 7μL											
	11. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 PCR：														
	<table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>5min</td></tr><tr><td rowspan="2">PCR 反应 (45 个循环)</td><td>95℃</td><td>15sec</td></tr><tr><td>60℃</td><td>30sec（采集 FAM 通道的荧光信号，设置 TAMRA 为淬灭基团）</td></tr></table>				过程	温度	时间	预变性	95℃	5min	PCR 反应 (45 个循环)	95℃	15sec	60℃	30sec（采集 FAM 通道的荧光信号，设置 TAMRA 为淬灭基团）
过程	温度	时间													
预变性	95℃	5min													
PCR 反应 (45 个循环)	95℃	15sec													
	60℃	30sec（采集 FAM 通道的荧光信号，设置 TAMRA 为淬灭基团）													
	四、数据处理														
	12. 如果样本制备阳性对照或 PCR 阳性对照(包括标曲样本)结果为阴性，则整个实验无效，不需要分析数据，需要重新样本制备，重新进行 PCR 扩增或跟厂家联系。如果样本制备阴性对照或 PCR 阴性对照结果为阳性，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系。 13. 如果阴性对照和阳性对照均正常，则实验有效，可以进入后续分析。 14. 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。 15. 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 Ct 大于或等于 42。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 42，否则实验无效。如果实验有效，则分析待测样品，如果无 Ct 或 Ct 大于或等于 42，则为阴性。如果 Ct 小于 42 则为阳性。														
自备试剂	样品 DNA。														
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 2 年。														

