天净沙系列

CAT#:15-42500

低温运输，-20℃保存

天净沙

猪圆环病毒探针法 PCR 试剂盒

Porcine Circovirus Probe PCR Kit

使用手册 V1.01

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

猪圆环病毒（Porcine Circovirus，PCV）有 PCV-1 到 PCV-4 四种型，其基因组为单链 DNA，长度分别为 1759 nt 和 1768 nt，其同源性低于 80%，但基因组结构相似。PCV-1 无致病性，广泛存在于猪体内。PCV-2 对猪具有较强的易感性，感染猪可自鼻液、粪便等废物中排出病毒，经口腔、呼吸道途径感染不同年龄的猪；PCV-3 致病性一般，但常与繁殖障碍相关；PCV-4 常引起多系统炎症，易导致混合感染。猪圆环病毒给养猪业带了来较大的经济损失。本产品就是以探针法荧光 PCR 技术为基础开发，专门检测猪圆环病毒的试剂盒，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，引物是根据猪圆环病毒 DNA 高度保守区设计，不会跟其他的 DNA 发生交叉反应。
5. 可用于定性检测，不推荐用于定量检测。
6. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法荧光 PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	981201	0.5 mL	0.5 mL 本色管
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5 mL 绿盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
猪圆环病毒 PCR 引物-探针干粉	yp15-42500nhc	50 次	0.5 mL 棕色管
猪圆环病毒 PCR 阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	pc42530-KT869077	250 μL	0.5 mL 黄盖管
使用手册	15-42500sc	1 份	无

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 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

自备试剂

样品 DNA。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 如果有 N 个样品，最好设置 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 μL 浓度为 1E4 拷贝/μL 的猪圆环病毒 qPCR 阳性对照再加上一定量的水使总体积跟每次样本制备所要求的起始样本体积一样，以此作为 PC。另外用水作为 NC。

2. 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，也可以选购本公司的免提取核酸释放剂。

三、Probe PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）

3. 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（直接用浓度为 1E4 拷贝/μL 的猪圆环病毒 PCR 阳性对照）。

4. 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	PCR 阳性 对照
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	各 10 μL
猪圆环病毒 PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	各 3 μL
N+2 个待测 DNA 样本	各 7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加
猪圆环病毒 PCR 阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL

5. 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℃	5 min
PCR 反应 （40 个循环）	95℃	15 sec
	60℃	60 sec（采集 FAM 通道的荧光信号，淬灭基团为 BHQ）

注：部分（如：伯乐 CFX96）机型如果两步法效果不理想可采用三步法： 95℃ 5 分钟，（95℃ 15 秒、55℃ 15 秒、72℃ 30 秒）循环 40 次，每个循环第三步采集荧光信号。

四、数据处理

6. 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 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 40，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 40，则为阴性。如果 Ct 小于 40 则为阳性。
关联产品	猪圆环病毒可视化染料-荧光染料 LAMP 试剂盒

20230510wmx-wjw