

## 新城疫病毒(禽副粘病毒 1 型)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:

新城疫病毒 (Newcastle Disease Virus, NDV) 即禽副粘病毒 1 型, 主要危害鸡、珠鸡和火鸡, 在被侵袭的鸡群中迅速传播, 强毒株可使鸡群全群毁灭。弱毒株仅引起鸡群呼吸道感染和产蛋量下降, 但可迅速康复。人类可因接触病禽和活毒疫苗而引起结膜炎或淋巴腺炎, 因此快速灵敏诊断具有重要意义。为此本公司开发了本产品, 可用于在科研领域快速定量检测新城疫病毒。

1. 一站式, 用户不需要单独准备每种成分, 包括引物 and 对照。
2. 根据新城疫病毒(=禽副粘病毒 1 型)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 $\mu$ 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 $\mu$ L (橘黄盖) |

|     |                                                            |                  |
|-----|------------------------------------------------------------|------------------|
| 试剂二 | MMLV-Taq Mix                                               | 75 $\mu$ L (红盖)  |
| 试剂三 | 超纯水                                                        | 1 mL (亮黄盖)       |
| 试剂四 | 新城疫病毒(=禽副粘病毒 1 型) RT-PCR 引物混合液                             | 100 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂五 | 新城疫病毒(=禽副粘病毒 1 型) RT-PCR 阳性对照 ( $1 \times 10^8$ / $\mu$ L) | 50 $\mu$ 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 10 $\mu$ L 新城疫病毒(=禽副粘病毒 1 型) 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 $\mu$ L 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        |
| 新城疫病毒(=禽副粘病毒 1 型) 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      | --          |
| 新城疫病毒(=禽副粘病毒 1 型) 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°C | 30 min |
| 预变性           | 95°C | 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。**