



# 水痘-带状疱疹病毒探针法荧光定量 PCR 试剂盒

Varicella-Zoster Virus Probe qPCR Kit

仅  
供  
科  
研  
使  
用

## 产品及特点

水痘-带状疱疹病毒 (Varicella-Zoster Virus, VZV) 属人类疱疹病毒α亚科，又称人类疱疹病毒 3 型 (Human Herpes Virus Typs 3, HHV-3) 是水痘和带状疱疹的病原体，其基因组为线性双链 DNA 分子，长约 124884bp。是一种儿童初次感染引起水痘，恢复后病毒潜伏在体内，少数病人在成人后病毒再发而引起带状疱疹的病毒。水痘是具有高度传染性的儿童常见疾病，多发于 2~6 岁，传染源主要是患者，患者急性期水痘内容物及呼吸道分泌物内均含有病毒。曾患过水痘的病人引起带状疱疹后，初期局部皮肤有异常感，搔痒、疼痛，进而出现红疹、疱疹，串连成带状，病程约 3 周左右，少数可达数月之久，还有可能出现脑脊髓炎和眼结膜炎等并发症。该病毒对人体健康有长期潜在危害，因此水痘-带状疱疹病毒的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用，为此本公司开发了简单快捷的水痘-带状疱疹病毒探针法荧光定量 PCR 检测试剂盒，[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，分析灵敏性高，可以达到 100 拷贝/ $\mu$ L。
3. 提供阳性对照和内参，便于排除假阴性结果。
4. 特异性高，引物是根据水痘-带状疱疹病毒高度保守区设计，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 $\mu$ L 体系的探针法 PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。体系的探针法 PCR 反应。
8. 本产品只可用于科研。

规格及成分	成分	规格	包装
	2×Probe qPCR MasterMix	0.5mL	0.5mL 本色管
	荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管
	水痘-带状疱疹病毒 PCR 引物-探针干粉 (含内参探针)	50 次	0.5mL 棕盖管
	水痘-带状疱疹病毒 PCR 阳性对照( $1\times10^7$ 拷贝/ $\mu$ L)	50 $\mu$ L	0.5mL 黄盖管
	水痘-带状疱疹病毒 PCR 内参( $1\times10^4$ 拷贝/ $\mu$ L)	250 $\mu$ L	0.5mL 白盖管
	使用手册	1 份	无
	本产品采用五孔盒包装		
	<b>注 意：</b> 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 200 $\mu$ L 超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20°C保存。		
使用方法	<b>一、稀释含内参的标准曲线样品</b> (以阳性对照 $10^1$ - $10^6$ 拷贝/ $\mu$ L 这 6 个 10 倍稀释度和内参固定在 $10^3$ 拷贝/ $\mu$ L 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)。		
	1. 标记 6 个离心管，分别为 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0。		
	2. 在 0 号管中加入 280 $\mu$ L 荧光 PCR 专用模板稀释液，35 $\mu$ L 本试剂盒提供的内参，震荡一分钟混匀。		
	3. 用带芯枪头分别将上步得到的混合液按 45 $\mu$ L/管加入到标记的 1-6 号管中，用带芯枪头 (下同)。		
	4. 在 6 号管中加入 5 $\mu$ L $1\times10^7$ 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，得 $1\times10^6$ 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。		
	5. 换枪头，在 5 号管中加入 5 $\mu$ L $1\times10^6$ 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 $1\times10^5$ 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。		
	6. 换枪头，在 4 号管中加入 5 $\mu$ L $1\times10^5$ 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 $1\times10^4$ 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。		
	7. 重复上面的操作直到得到 6 个稀释度的标准曲线阳性样品，每个样品中内参的浓度固定为 $10^3$ 拷贝/ $\mu$ L。放冰上待用。		
	<b>二、样品 DNA 的制备</b>		
8. 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 $\mu$ 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。在所有样本中加入 5 $\mu$ L 本试剂盒提供的内参（共 50000 拷贝）。

**9. 用自选方法纯化样品的 DNA（含内参），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 qPCR 反应 (20 $\mu$ L 体系, 在样品制备室进行)**

**10. 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。**

**11. 在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复）：**

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 $\mu$ L	10 $\mu$ L	各 10 $\mu$ L
水痘-带状疱疹病毒 PCR 引物-探针混合液(含内参引物)	各 4 $\mu$ L	4 $\mu$ L	各 4 $\mu$ L
N+2 个待测 DNA（含内参）	各 6 $\mu$ L	不加	不加
超纯水	不加	6 $\mu$ L	不加
第 6 步所得标准曲线样品稀释液 (含内参, 1-6 号)	不加	不加	各 6 $\mu$ L

**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°C	3min
PCR 反应	95°C	10sec

(40 个循环)	60°C	60sec
	72°C	60 sec (采集 FAM 通道和 HEX 通道的荧光信号, 淬灭基团均为 TAMRA)

#### **四、数据处理**

- 12.** 如果扩增阳性对照或制备阳性对照结果为阴性, 则整个扩增或制备实验无效, 不需要分析数据, 需要重做扩增或制备或跟厂家联系。如果扩增阴性对照或制备阴性对照结果为阳性, 说明环境污染, 则整个扩增或制备实验无效, 不需要分析数据, 需要跟厂家联系, 购买新的引物和探针。对任何阴性样品, 如果内参无 Ct, 则此样品的阴性结果无效, 此样品需要重复实验。
- 13.** 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, 分别以阳性对照 (FAM 通道) 和内参 (HEX 通道) 的 Ct 值为纵轴, 绘制标准曲线, 阳性对照的标准曲线为斜线,  $r^2$  必须大于 0.95, 内参的标准曲线为一条跟 X 轴平行的横线。再以待测样品的 Ct 值从阳性对照的标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值, 再推算出其浓度。
- 14.** 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 FAM 通道的 Ct 必须大于或等于 40。阳性对照 FAM 通道的荧光信号必须有对数增长, 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 大于或等于 40 则为阴性, 如果小于或等于 35 则为阳性。如果在 35-40 之间, 则重复一次。重复实验的 Ct 值如果大于或等于 40 则为阴性, 如果小于 40, 则为阳性。对任何 FAM 通道结果为阴性的样品, 如果其对应的内参 HEX 通道无 Ct, 则此样品的阴性结果无效, 此样品需要重复实验。

<b>PCR 编号</b>	TW-E10276
<b>说明书</b>	1 份
<b>自备试剂</b>	样品 DNA
<b>运输及保存</b>	低温运输, -20°C 保存, 有效期 1 年

**上海通蔚**

**生产企业：上海通蔚实业有限公司**

**公司地址：上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603**

**公司电话：021-54845833**

**技术支持：15800441009**