

猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D7580S	猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒	50次
D7580M	猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒	200次

产品简介:

- 碧云天生产的猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒, 即Feline Panleukopenia Virus (FPV) SYBR Green qPCR Kit, 也称猫细小病毒(猫泛白细胞减少症、猫瘟)染料法qPCR试剂盒、Feline Parvovirus (FPV) SYBR qPCR Kit, 是一种通过染料法qPCR (Quantitative PCR)快速、有效、高灵敏地检测猫是否感染细小病毒的试剂盒。本产品为防污染型, 含有优化比例的高品质UDG酶和dUTP, 可有效消除PCR扩增过程中带来的产物污染问题造成的假阳性或CT值偏低。
- 猫细小病毒(Feline panleukopenia virus or parvovirus, FPV), 又称猫瘟热病毒、猫泛白细胞减少症病毒、猫传染性肠炎病毒, 是一种单链DNA病毒, 属于细小病毒科细小病毒属。在电子显微镜下, FPV呈圆形或六角形, 无囊结构[1]。基因组长度约为5200nt, 包含两个开放阅读框(Open reading frame, ORF), 分别编码结构蛋白(VP1和VP2)和非结构蛋白(NS1和NS2)。受FPV感染的动物白细胞急剧下降, 同时伴有严重的发热、呕吐、腹泻等症状。病毒主要侵害幼猫, 几乎所有猫科动物易感, 死亡率较高, 可通过患病动物的粪便、尿液和呕吐物迅速传播, 在可妊娠期间垂直传播, 导致胎儿小脑发育不全。因此, 早期和快速诊断FPV是非常必要的, 以便分离受感染的猫并实施针对性治疗, 降低发病率和死亡率。
- FPV感染的主要症状为发热、呕吐、腹泻, 在临床上极易与其它胃肠道疾病混淆, 因此仅依靠临床表现来诊断是否感染FPV较为困难。到目前为止, 临床诊断FPV感染的方法有电子显微镜(Electron microscope, EM)、病毒分离(Virus isolation, VI)、乳胶凝集(Latex agglutination test, LAT)、血球凝集(Hemagglutination, HA)、ELISA和PCR分析等[2]。虽然电子显微镜和病毒分离较为特异和敏感, 但这些技术在临床使用过程中昂贵且耗时。乳胶凝集法虽然检测速度快, 但缺乏特异性。对于血球凝集或血清凝集抑制实验, 由于FPV血凝活性弱且该方法对操作条件要求较高, 相关实验条件较为苛刻, 在临床检测中也易出现假阴性结果。此外, 虽然ELISA和PCR因其高灵敏度和特异性被广泛使用, 但操作略显复杂。而qPCR法操作方便简单, PCR扩增后无需电泳分析即可确定是否感染FPV。
- 本试剂盒提供了qPCR实验所需的预混液BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)和特异性引物, 预混液包含了BeyoFast™ Taq DNA Polymerase、UDG酶、PCR Buffer、dNTPs、dUTP、SYBR Green I荧光染料、稳定剂和镁离子等所有的通用组分, 引物以FPV VP2基因最保守的序列作为靶点所设计, 二者结合可用于FPV DNA的超高灵敏度定量检测。此外, 本试剂盒提供Positive Control, 即阳性对照, 用于检测试剂盒本身是否能正常工作。
- 本试剂盒进行了优化, 检测下限为100-1000 copies/μl。本试剂盒用于阳性质粒检测的平均Ct值见下表, 检测效果参考图1。

Target	100pg	10pg	1pg	100fg	10fg	1fg	NTC
平均Ct值	11.86	15.81	20.60	25.04	29.69	33.84	Undetermined

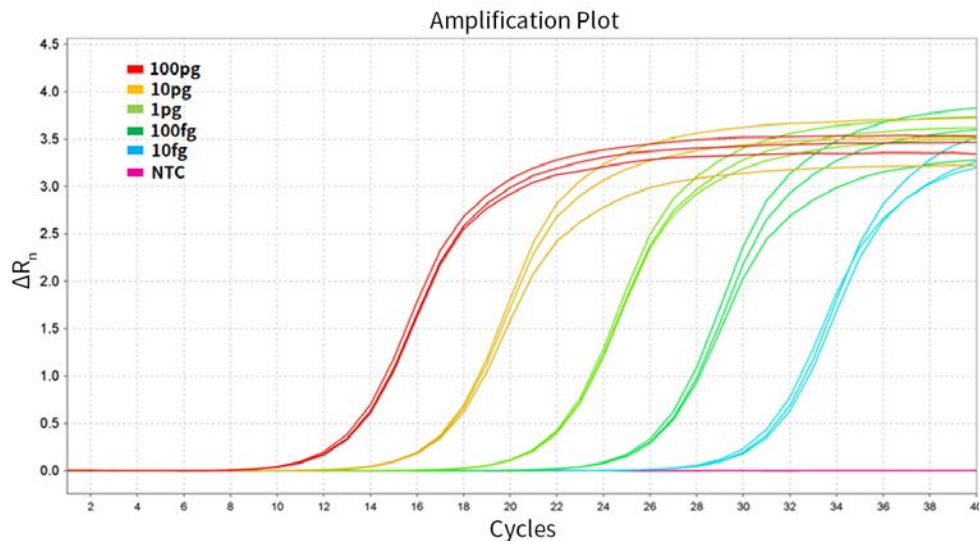


图1. 碧云天猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒(D7580)用于阳性质粒的检测效果图。将本试剂盒中的Positive Control稀释至每反应中的质粒量分别为100pg、10pg、1pg、100fg、10fg和1fg, 然后用本试剂盒进行qPCR检测。使用Nuclease-free water作为阴性对照。NTC, negative control。实测数据可能会因样品、检测仪器的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本试剂盒提供了Low ROX和High ROX，广泛兼容于无需ROX和需要Low ROX或High ROX作为校正染料的荧光定量PCR仪。ROX的作用是用于校正与PCR无关的荧光波动，从而最大限度减少孔间差异。这种差异可能由多种因素引起，如移液误差及样品蒸发等。不同的荧光定量PCR仪对ROX的要求不同，请根据实际所用仪器在配制反应体系时选择高浓度ROX (High ROX)、低浓度ROX (Low ROX)或不加ROX。常用仪器所需ROX类型请参考如下表格。

添加ROX类型	适用PCR仪
不需添加	Bio-Rad: CFX384, CFX96, MiniOpticon, iCycler IQ, MyiQ and iQ5; Eppendorf: Mastercycler ep realplex and realplex2 s; Qiagen/Corbett Rotor-Gene: 6000; Roche LightCycler 480; Cepheid SmartCycler; Illumina Eco qPCR
Low ROX	ABI: 7500(Fast), ViiA 7, QuantStudio 6 and 7 Flex Systems; Stratagene: Mx3000P, Mx3005P and Mx4000; Qiagen/Corbett Rotor-Gene: 3000; Bio-Rad/MJ: Chromo4, Opticon 2 and Opticon
High ROX	ABI GeneAmp 5700; ABI PRISM 7000, 7700; ABI 7300, 7900HT(Fast); ABI StepOne (Plus)

- 本试剂盒如果用于常规的96孔板qPCR检测(建议反应体系为20μl)或384孔板qPCR检测(建议反应体系为10μl)，本产品小包装分别可以进行50次和100次检测，中包装分别可进行200次和400次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7580S-1	BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)	500μl
D7580S-2	Primer Mix	100μl
D7580S-3	Positive Control	100μl
D7580S-4	Low ROX (50X)	20μl
D7580S-5	High ROX (50X)	20μl
D7580S-6	Nuclease-free Water	500μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7580M-1	BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)	2ml
D7580M-2	Primer Mix	400μl
D7580M-3	Positive Control	400μl
D7580M-4	Low ROX (50X)	80μl
D7580M-5	High ROX (50X)	80μl
D7580M-6	Nuclease-free Water	2ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。其中BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)、Low ROX (50X)、High ROX (50X)须-20°C避光保存，并尽量避免反复冻融。

注意事项：

- 使用前需确保试剂完全融化，上下颠倒轻轻混匀后使用。混匀过程中尽量避免产生气泡。
- BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)、Low ROX (50X)、High ROX (50X)中含有荧光染料，保存本产品或设置PCR反应时应避免强光照射，以尽量避免荧光淬灭问题。
- 经测试，本产品反复冻融10次对使用效果无显著影响，但仍需尽量避免反复冻融。反复冻融可能使产品性能下降。
- qPCR检测是超高灵敏度的检测，请尽量在标准的PCR实验室中进行检测。PCR反应设置区域须尽量避免各种可能的扩增产物的污染。虽然本产品为防污染性，但仍建议勿在PCR反应设置区域撕开PCR封板膜或打开PCR管盖，PCR产物宜密封后按扩增后产物要求处理，以避免超高浓度的PCR产物污染实验环境。
- 建议使用带滤芯的吸头配制PCR体系，这样可以最大限度的避免污染导致的假阳性。推荐BeyoGold™ 无菌滤芯盒装吸头 (FTIP631/FTIP635/FTIP638)
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 需要用户自备的耗材、仪器和试剂：

- a. 荧光定量PCR仪。
- b. DNase-free、RNase-free的吸头、离心管、荧光定量PCR用96孔板或384孔板、PCR板封板膜。

2. 样本准备:

本试剂盒可用于检测感染猫细小病毒的血液、口鼻拭子、肛拭子等样品，用病毒DNA提取试剂盒提取后再进行PCR，推荐使用BeyoMag™磁珠法病毒RNA/DNA抽提试剂盒(R0083)。如果急需检测，也可以尝试取0.5-2μl液体样品，未经DNA提取直接作为模板尝试用于qPCR检测，但直接检测的灵敏度会有所下降。

3. qPCR反应体系的设置:

- a. 融解并混匀反应所需的各种溶液，置于冰浴上或冰盒内。
- b. 参考下表在室温或冰浴上设置qPCR反应体系(以96孔板，每孔反应体系为20μl为例)。下表中的Template为样品、阴性对照(Negative Control)或阳性对照(Positive Control)。Negative Control可使用Nuclease-free Water。建议每次检测都设置Negative Control和Positive Control。

Reagent	Volume
BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)	10μl
Primer Mix	2μl
Template	2μl
Without or Low/High ROX (50X)	0 or 0.4μl
Nuclease-free Water	To 20μl

- c. 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀，室温离心数秒，使液体积聚于管底。
- d. 将设置好的PCR反应管或PCR反应板置于荧光定量PCR仪上，开始PCR反应。

4. qPCR反应程序:

本试剂盒建议采用如下的qPCR程序，本程序是以QuantStudio™ 6 Flex Systems荧光定量PCR仪为例:

- a. UDG酶处理: 50°C 5min
- b. 预变性: 95°C 2min
- c. 变性: 95°C 15sec
- d. 退火/延伸: 60°C 15sec
- e. 重复步骤c和步骤d，总共40个循环
- f. 溶解曲线分析(可选): 95°C 15sec, 60°C 15sec, 95°C 15sec
- g. 最后使用荧光定量PCR仪提供的软件分析检测结果

5. 结果的定性判断:

- a. 阳性对照: 呈典型S型扩增曲线且Ct值≤34。
- b. 阴性对照: 无典型S型扩增曲线或Ct值>34。
- c. 样品阳性: 如果待测样本检测结果呈典型S型扩增曲线且Ct值≤34，且阳性对照品检测结果为阳性，阴性对照品检测结果为阴性，此次结果判断为猫细小病毒阳性。
- d. 样品阴性: 如果待测样本检测结果无典型S型扩增曲线或Ct值>34，且阳性对照品检测结果为阳性，阴性对照品检测结果为阴性，此次结果判断为猫细小病毒阴性。

参考文献:

1. Wang Y, Pan Y, Wu J, Tong X, Sun J, et al. 3 Biotech. 2021. 11(9):400.
2. Wang ZH, Wang XJ, Hou SH. J Virol Methods. 2019. 271:113679.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7580S	猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒	50次
D7580M	猫细小病毒(FPV)染料法qPCR检测试剂盒	200次
D7583S	猫细小病毒(FPV)探针法qPCR检测试剂盒	50次
D7583M	猫细小病毒(FPV)探针法qPCR检测试剂盒	200次
D7586S	猫细小病毒(FPV)等温扩增变色检测试剂盒	25次
D7586M	猫细小病毒(FPV)等温扩增变色检测试剂盒	100次
D7589S	猫细小病毒(FPV)等温扩增荧光检测试剂盒	25次
D7589M	猫细小病毒(FPV)等温扩增荧光检测试剂盒	100次
FASA011-1pc	BeyoGold™封板膜刮板	1个/袋
FSF002	荧光定量PCR用封板膜(ABI分装)	20片/包装
FSF035-20pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型)	20片/包装
FSF035-100pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型)	100片/包装
FSF039-20pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型, 进口分装)	20片/包装
FSF039-100pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型, 进口分装)	100片/包装

FTUB325-125pcs	BeyoGold™ qPCR八联排管(0.2ml, 平盖, 透明)	125排/盒
FTUB325-1250pcs	BeyoGold™ qPCR八联排管(0.2ml, 平盖, 透明)	125排/盒, 10盒/箱
FTUB326-300pcs	BeyoGold™ qPCR八联排管(0.2ml, 平盖, 透明, 6条/袋)	6条/袋, 50袋/箱
FTUB326-1500pcs	BeyoGold™ qPCR八联排管(0.2ml, 平盖, 透明, 6条/袋)	6条/袋, 250袋/箱
FTUB333	荧光定量PCR用96孔板(ABI原装)	20个/包装
FTUB384	荧光定量PCR用384孔板(ABI分装)	20个/包装
FTUB335-10pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 无裙边, 透明)	10个/盒
FTUB335-50pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 无裙边, 透明)	10个/盒, 5盒/箱
FTUB337-10pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 半裙边, 透明)	10个/盒
FTUB337-50pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 半裙边, 透明)	10个/盒, 5盒/箱
FTUB339-10pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 高裙边, 磨砂)	10个/盒
FTUB339-50pcs	BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 高裙边, 磨砂)	10个/盒, 5盒/箱

Version 2023.11.13