

人免疫缺陷病毒I型探针法qRT-PCR试剂盒

Human Immunodeficiency Virus 1 Probe qRT-PCR Kit

CAT#:BN63120

低温运输, -20℃保存

产品及特点

人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV) 是引起艾滋病的病原体, 属于逆转录病毒科慢病毒亚科, 为单股正链RNA病毒, 基因组约为9.7 kb。人免疫缺陷病毒主要分人免疫缺陷病毒I型和人免疫缺陷病毒II型两种亚型, 人免疫缺陷病毒I型在全世界流行, 是严重危害人类身体健康和生命的病毒性传染病的病原体, 也是全球社会主要的公共卫生问题。因此快速检测人免疫缺陷病毒I型病毒具有重要意义。本产品就是以探针法荧光定量RT-PCR技术为基础开发的专门检测人免疫缺陷病毒I型的试剂盒, 它具有下列特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供样品RNA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/反应。
3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。
4. 特异性高, 引物是根据人免疫缺陷病毒I型RNA高度保守区设计, 不会跟其他生物的RNA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qRT-PCR反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

成分	编号	规格
探针法qRT-PCR缓冲液	60001	500 μL
探针法qRT-PCR酶混合液v2	60002	50 μL
荧光PCR专用模板稀释液	60002	1 mL
人免疫缺陷病毒I型 qRT-PCR引物-探针干粉	63120-4	50 次
人免疫缺陷病毒I型 qRT-PCR阳性对照(1E7拷贝/μL)	63120-5	50 μL

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。

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

自备试剂

样品RNA。

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。如果需要RNA阳性样品，需要另外订购。

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，最好用带芯枪头，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5μL 1E6拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡1分钟，得1E5拷贝/μL的标准曲线样品。放冰上待用。
5. 换枪头，在4号管中加入5 μL 1E5拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡1分钟，得1E4拷贝/μL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RNA的制备

7. 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上步所得4号稀释液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。
8. 用自选方法纯化样品的RNA，本试剂盒跟市场上大多数RNA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 qRT-PCR反应（20 μL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RT-PCR管，其中N+2个用于上步得到的N+2个样品，1个用于RT-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RT-PCR管，其中N+2个用于上步得到的N+2个样品，1个用于RT-PCR阴性对照（用水做模板），1个用于RT-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最后加）：

成分	样品管 N+2个	RT-PCR阴 性对照	标准曲线样品管 (1-6管)
本产品仅用于科研	N+2个		
探针法qRT-PCR模板液	各10 μL	10 μL	各10 μL
探针法qRT-PCR酶混合液v2	各1 μL	1 μL	各1 μL
人免疫缺陷病毒I型	各3 μL	3 μL	各3 μL

