

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:13-87800

低温运输, -20℃保存

**BINGENE**

人类嗜 T 淋巴细胞病毒电泳法 RT-PCR 试剂盒

Human T-cell Lymphoma Virus RT-PCR Kit

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: [www.bingene.com](http://www.bingene.com); 电话: 400-6005850; 电邮: [order@bingene.com](mailto:order@bingene.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>人类嗜 T 淋巴细胞病毒(Human T-cell Lymphoma Virus, HTLV)是一种致瘤性 RNA 病毒,属慢病毒亚科,可分为 I 型和 II 型。近来发现该病毒在人类可引起多种疾病: I 型可引起成人 T 细胞白血病/淋巴瘤、热带痉挛性截瘫以及其他具有相关性的脊髓病等; II 型与 T-多毛细胞/巨粒细胞白血病等疾病相关,两类病毒都会对人体健康造成严重损害,因此快速灵敏诊断具有重要意义。本产品就是为满足此需求而开发的、专门检测人类嗜 T 淋巴细胞病毒检测的 RT-PCR 试剂盒,它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 即开即用,用户只需要提供样品 RNA 模板。</li> <li>2. 产品经过精心优化,分析灵敏性能到达 10000 拷贝/反应。</li> <li>3. 提供阳性对照,便于区分假阴性样品。</li> <li>4. 特异性高,引物是根据人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RNA 高度保守区设计,只能检测人类嗜 T 淋巴细胞病毒,不会跟除此之外的其他生物的 RNA 发生交叉反应。</li> <li>5. 本产品足够 50 次 20<math>\mu</math>L 体系的 RT-PCR 反应。</li> <li>6. 本产品只能用于定性实验,不能用于定量实验。</li> <li>7. 本产品只能用于科研。</li> </ol>																															
<p><b>规格及成分</b></p>	<p>本产品采用 5 孔盒包装</p> <table border="1" data-bbox="472 1211 1453 1653"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2<math>\times</math>RT-PCR Buffer</td> <td>91202a</td> <td>500 <math>\mu</math>L</td> <td>0.5mL 本色盖</td> </tr> <tr> <td>RT-PCR 酶混合液</td> <td>91202b</td> <td>50<math>\mu</math>L</td> <td>0.5mL 红盖管</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>210806</td> <td>1 mL</td> <td>1.5mL 蓝盖管</td> </tr> <tr> <td>人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 引物混合液</td> <td>yw14-87800</td> <td>100 <math>\mu</math>L</td> <td>0.5mL 白盖管</td> </tr> <tr> <td>人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 阳性对照 (1<math>\times</math>10E4 拷贝/<math>\mu</math>L)</td> <td>pc87800</td> <td>250 <math>\mu</math>L</td> <td>0.5mL 黄盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-87800sc</td> <td>1 份</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>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。如果需要 RNA 片段作为阳性对照的需要单独定制。</p>				成分	编号	规格	包装材料	2 $\times$ RT-PCR Buffer	91202a	500 $\mu$ L	0.5mL 本色盖	RT-PCR 酶混合液	91202b	50 $\mu$ L	0.5mL 红盖管	超纯水	210806	1 mL	1.5mL 蓝盖管	人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 引物混合液	yw14-87800	100 $\mu$ L	0.5mL 白盖管	人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)	pc87800	250 $\mu$ L	0.5mL 黄盖管	使用手册	13-87800sc	1 份	1 份
成分	编号	规格	包装材料																													
2 $\times$ RT-PCR Buffer	91202a	500 $\mu$ L	0.5mL 本色盖																													
RT-PCR 酶混合液	91202b	50 $\mu$ L	0.5mL 红盖管																													
超纯水	210806	1 mL	1.5mL 蓝盖管																													
人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 引物混合液	yw14-87800	100 $\mu$ L	0.5mL 白盖管																													
人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)	pc87800	250 $\mu$ L	0.5mL 黄盖管																													
使用手册	13-87800sc	1 份	1 份																													
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输, -20<math>^{\circ}</math>C 保存, 保存期限为 12 个月。</p>																															
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>样品 RNA</p>																															
<p><b>使用方法</b></p>	<p><b>一、样品 RNA 的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 如果有 N 个样品,必须设置 N+2 个提取反应,多出的两个中一个是 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<math>\mu</math>L 试剂盒</li> </ol>																															

提供的 RT-PCR 阳性对照 ( $1 \times 10^4$  拷贝/ $\mu\text{L}$ ) 再加上一定量的水作为制备的阳性对照, 加水后其总体积跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样品体积一样。可以用水作为制备的阴性对照。

2. 用自选方法纯化上述 N+2 个样品的 RNA。本试剂盒跟市场上大多数样品 RNA 提取试剂盒兼容, 也可以选用本公司的相关的核酸提取试剂盒。

## 二、设置 RT-PCR 反应 (20 $\mu\text{L}$ 体系)

3. 标记 N+4 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 RNA 样品, 额外增加的两个管一个用于 RT-PCR 阳性对照, 另一个用于 RT-PCR 阴性对照。按照下表在各 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
2 $\times$ RT-PCR Buffer	各 10 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$
RT-PCR 酶混合液	1 $\mu\text{L}$	1 $\mu\text{L}$	1 $\mu\text{L}$
人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$
制备的 N+2 个 RNA 样品	各 7 $\mu\text{L}$	不加	不加
超纯水	不加	7 $\mu\text{L}$	不加
人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 阳性对照 ( $1 \times 10^4$ 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	不加	不加	7 $\mu\text{L}$

4. 上机进行 RT-PCR, RT-PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
逆转录	42 $^{\circ}\text{C}$	55 分钟
预变性	95 $^{\circ}\text{C}$	5 分钟
PCR 反应 (30 个循环)	95 $^{\circ}\text{C}$	15 秒
	55 $^{\circ}\text{C}$	60 秒
	72 $^{\circ}\text{C}$	60 秒
延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	10 分钟

## 三、电泳分析

5. 取 10 $\mu\text{L}$  扩增产物进行常规琼脂糖电泳, 检测扩增效果, 由于扩增产物较短, 建议用 1.5%-2.0%的琼脂糖凝胶。
6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 167bp。如果两个阴性对照 (样品制备阴性对照或 RT-PCR 阴性对照) 有此扩增产物, 说明环境污染, 则整个实验无效, 不需要分析实验结果。

	<p>7. 如果所有样品和 RT-PCR 阳性对照均无此扩增产物，则说明有系统性的问题（试剂，设备，程序，操作等），需要重复并排查原因。</p> <p>8. 如果没有上述两种情况，则实验有效，可以分析样品的扩增结果。N+2 个样品中扩增产物的判断为阳性，无则判定为阴性。</p>
<b>关联产品</b>	人类嗜 T 淋巴细胞病毒荧光及可视化 RT-LAMP 检测试剂盒