

天
净
沙
系
列

CAT#:13-87810
低温运输, -20℃保存

BINGENE

人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型电泳法 RT-PCR 试剂盒
Human T-cell Lymphoma Virus 1 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; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|------------|--------|-----------|----|----|----|------|-----------------|--------|--------|-----------|----------------|--------|------|-----------|-----|--------|------|-----------|-------------------------------|------------|--------|-----------|---|---------|--------|-----------|------|------------|-----|-----|
| 产品及特点 | 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型(Human T-lymphotropic Virus 1,HTLV 1) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 主要感染人 CD4+T 淋巴细胞，可引起成人 T 淋巴细胞白血病/淋巴瘤、HTLV | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 相关脊髓病（HTLV-I associated myelopathy ，HAM/ 热带痉挛性下肢瘫， | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | tropical spastic paraparesis TSP）及色素层炎。它主要通过输血、针头、性 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 行为、母子传染，因此灵敏快捷地检测 HTLV-I 具有重要的意义。本产品就是为 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 满足此需求而开发的、专门检测 HTLV-I 的常规 RT-PCR 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. 产品经过精心优化，分析灵敏性能到达 100 拷贝/反应。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 规格及成分 | 本产品使用五孔盒包装 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <table><tr><td>成份</td><td>编号</td><td>规格</td><td>包装材料</td></tr><tr><td>2×RT-PCR Buffer</td><td>91202a</td><td>500 μL</td><td>0.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>10×RT-PCR 酶混合液</td><td>91202b</td><td>50μL</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 1 型 RT-PCR 引物混合液</td><td>yw13-87810</td><td>100 μL</td><td>0.5mL 白盖管</td></tr><tr><td>人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)</td><td>pc87810</td><td>250 μL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>13-87810sc</td><td>1 份</td><td>1 份</td></tr></table> | | | | 成份 | 编号 | 规格 | 包装材料 | 2×RT-PCR Buffer | 91202a | 500 μL | 0.5mL 绿盖管 | 10×RT-PCR 酶混合液 | 91202b | 50μL | 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 1 型 RT-PCR 引物混合液 | yw13-87810 | 100 μL | 0.5mL 白盖管 | 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL) | pc87810 | 250 μL | 0.5mL 黄盖管 | 使用手册 | 13-87810sc | 1 份 | 1 份 |
| | 成份 | 编号 | 规格 | 包装材料 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 2×RT-PCR Buffer | 91202a | 500 μL | 0.5mL 绿盖管 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 10×RT-PCR 酶混合液 | 91202b | 50μL | 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 1 型 RT-PCR 引物混合液 | yw13-87810 | 100 μL | 0.5mL 白盖管 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL) | pc87810 | 250 μL | 0.5mL 黄盖管 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 使用手册 | 13-87810sc | 1 份 | 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。如果需要 RNA 片段作为阳性对照的需要单独定制。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 运输及保存 | 低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 自备试剂 | 样品 RNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 使用方法 | 一、样品 RNA 的制备 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

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 10μL 试剂盒提供的 RT-PCR 阳性对照（ 1×10^4 拷贝/μL）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（20μL 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×RT-PCR Buffer | 各 10 μL | 10 μL | 10 μL |
| 10×RT-PCR 酶混合液 | 1 μL | 1 μL | 1 μL |
| 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 引物混合液 | 各 2 μL | 2 μL | 2 μL |
| 制备的 N+2 个 RNA 样品 | 各 7 μL | 不加 | 不加 |
| 超纯水 | 不加 | 7 μL | 不加 |
| 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照（ 1×10^4 拷贝/μL） | 不加 | 不加 | 7 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℃ | 55 分钟 |
| 预变性 | 95℃ | 5 分钟 |
| PCR 反应 (30 个循环) | 95℃ | 15 秒 |
| | 55℃ | 60 秒 |
| | 65℃ | 60 秒 |
| 延伸 | 72℃ | 10 分钟 |

三、电泳分析

5. 取 10μL 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 110bp。如果两个阴性对照（样品制

| | |
|-------------|---|
| | <p>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> <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> |
| 关联产品 | 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型荧光及可视化 RT-LAMP 检测试剂盒 |