

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	<p>人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型(Human T-lymphotropic Virus 1, HTLV 1)</p> <p>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：</p> <ol style="list-style-type: none"> 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。 4. 特异性高，引物是根据人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RNA 高度保守区设计，只能检测人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型，不会跟除此之外的其他生物的 RNA 发生交叉反应。 5. 本产品足够 50 次 20μL 体系的 RT-PCR 反应。 6. 本产品只能用于定性实验，不能用于定量实验。 7. 本产品只能用于科研。 																												
规格及成分	<p>本产品使用五孔盒包装</p> <table border="1" data-bbox="462 1244 1441 1724"> <thead> <tr> <th>成份</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装材料</th></tr> </thead> <tbody> <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> </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																										
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																												

- 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 ($1 \times 10E4$ 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。
- 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)

- 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 ($1 \times 10E4$ 拷贝 / μL)	不加	不加	7 μL

- 上机进行 RT-PCR，RT-PCR 反应参数为：

过程	温度	时间
逆转录	42°C	55 分钟
预变性	95°C	5 分钟
PCR 反应 (30 个循环)	95°C	15 秒
	55°C	60 秒
	65°C	60 秒
延伸	72°C	10 分钟

三、电泳分析

- 取 10uL 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。
- 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

20220616dx