

上海通尉

TW—reagent.com 上海通尉

人乳头瘤病毒 35 型探针法 qPCR 试剂盒

Human Papillomavirus 35 Probe qPCR Kit

仅

供

科

研

使

用

<p>产品及特点</p>	<p>人乳头瘤病毒(Human Papillomavirus, HPV)是一种属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒 A 属, 属于 DNA 病毒, 能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖, 表现为寻常疣、生殖器疣 (尖锐湿疣) 等症状。随着性病中尖锐湿疣的发病率急速上升和宫颈癌、肛门癌等的增多, 人乳头瘤病毒感染越来越引起人们的关注。人乳头瘤病毒有很 130 多种型, 其中人乳头瘤病毒 35 型 (HPV-35) 属于高危型, 因此快速准确鉴定 HPV-35 对该上述疾病的预防和检疫有着重要作用, 本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测 HPV-35 的试剂盒, 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 DNA 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 HPV-35 型 DNA 高度保守区设计, 不会跟其他病毒的 DNA 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 20μL 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。 7. 本产品只能用于科研。 																							
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="358 1209 1542 1560"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>规格</th> <th>包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2\timesProbe qPCR MasterMix</td> <td>0.5mL</td> <td>0.5mL 本色管</td> </tr> <tr> <td>荧光 PCR 模板专用稀释</td> <td>1mL</td> <td>1.5mL 红盖管</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>1mL</td> <td>1.5mL 紫盖管</td> </tr> <tr> <td>HPV-35 qPCR 引物-探针混合液干粉</td> <td>50 次</td> <td>0.5mL 棕色管</td> </tr> <tr> <td>HPV-35 qPCR 阳性对照(1\times10E7 拷贝/μL)</td> <td>50μL</td> <td>0.5mL 黄盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">本产品采用五孔盒包装</p> <p>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 165μL 的超纯水充分混匀后再使用, 未用完的需要-20$^{\circ}$C 保存。</p>			成分	规格	包装	2 \times Probe qPCR MasterMix	0.5mL	0.5mL 本色管	荧光 PCR 模板专用稀释	1mL	1.5mL 红盖管	超纯水	1mL	1.5mL 紫盖管	HPV-35 qPCR 引物-探针混合液干粉	50 次	0.5mL 棕色管	HPV-35 qPCR 阳性对照(1 \times 10E7 拷贝/ μ L)	50 μ L	0.5mL 黄盖管	使用手册	1 份	无
成分	规格	包装																						
2 \times Probe qPCR MasterMix	0.5mL	0.5mL 本色管																						
荧光 PCR 模板专用稀释	1mL	1.5mL 红盖管																						
超纯水	1mL	1.5mL 紫盖管																						
HPV-35 qPCR 引物-探针混合液干粉	50 次	0.5mL 棕色管																						
HPV-35 qPCR 阳性对照(1 \times 10E7 拷贝/ μ L)	50 μ L	0.5mL 黄盖管																						
使用手册	1 份	无																						
	<p>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</p>																							

使用方法

片段作为阳性对照。

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 μ L 荧光 PCR 专用模板稀释液，用带芯枪头，下同。
3. 在 6 号管中加入 5 μ L 1×10^7 拷贝/ μ L 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，得 1 $\times 10^6$ 拷贝/ μ L 的标准曲线样品。放冰上待用。
4. 换枪头，在 5 号管中加入 5 μ L 1×10^6 拷贝/ μ L 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1 $\times 10^5$ 拷贝/ μ L 的标准曲线样品。放冰上待用。
5. 换枪头，在 4 号管中加入 5 μ L 1×10^5 拷贝/ μ L 的阳性对照(上步所得)，充分震荡 1 分钟，得 1 $\times 10^4$ 拷贝/ μ L 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 DNA 的制备

7. 如果有 N 个样品，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 μ L 上步所得 4 号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次制备要求的体积一样，以此作为 PC。
8. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 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 qPCR 反应 (20 μ L 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 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 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 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板)，1 个用于 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)
2×Probe qPCR MasterMix	各 10μL	10μL	各 10μL
HPV-35 qPCR 引物-探针混合液	3μL	3μL	各 3μL
超纯水	不加	7μL	不加
第 6 步所得标准曲线样品稀释液 (1-6 号)	不加	不加	各 7μL

11. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 PCR：

过程	温度	时间
预变性	95℃	5min
PCR 反应 (45 个循环)	95℃	15sec
	60℃	1min (采集 FAM 通道, 淬灭基团为 TAMRA)

四、数据处理

12. 如果把本试剂盒用于定量检测，则以阳性对照浓度的 log 值为横轴，以 Ct 值为纵轴，绘制标准曲线。再以待测样品的 Ct 值从标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值，再推算出其浓度。

13. 如果把本试剂盒用于定性检测，只判断阳性或阴性，则阴性对照必须无 Ct 或 Ct 大于或等于 40。阳性对照必须有荧光对数增长，有典型扩增曲线，Ct 值应该小于 40，否则实验无效。如果实验有效，则分析待测样品，如果无 Ct 或 Ct 大于或等于 40，则为阴性。如果 Ct 小于 40 则为阳性。

PCR 编号	TW-E11279
说明书	1 份
自备试剂	超纯水，样品 DNA
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 2 年

上海通蔚

生产企业: 上海通蔚实业有限公司

公司地址: 上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603

公司电话: 021-54845833

技术支持: 15800441009