

# 甲型肝炎病毒 RT-PCR 试剂盒

**本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断**

**咨询 QQ : 2881498726**

**订购热线 : 021 - 54720761**

**咨询电话 : 13166274233(微信同号)**

## **产品及特点:**

甲型肝炎病毒(Hepatitis A Virus, HAV)会引起甲型肝炎, 该病毒病毒主要通过粪、口途径传播, 传染源多为病人。甲型肝炎的潜伏期为 15~45 天, 易感群体多为儿童及青年, 发病率随年龄增长而递减, 感染后临床表现多从发热、疲乏和食欲不振开始, 继而出现肝肿大、压痛、肝功能损害, 部份患者可出现黄疸。该病毒的感染对人体健康有较大损害, 因此快速灵敏诊断具有重要意义。为此本公司开发了本产品, 可用于在科研领域快速定量检测甲型肝炎病毒。它具有下列特点: 1. 一站式, 用于不需要单独准备每种成分,

## **它具有下列特点:**

1. 一站式, 用户不需要单独准备每种成分, 包括引物和对照。
2. 根据甲型肝炎病毒的保守基因序列设计的引物, 具有良好的特异性。
3. 灵敏度可以达到 1000 拷贝/反应。
4. 使用一管式 RT-PCR 技术, RT 和 PCR 两步在一个试管内完成, 不需要中间转移样品, 降低了操作误差和可能的污染。
5. 本产品足够 50 次 20 $\mu$ L 体系的 RT-PCR。
6. 本产品只能用于科研, 不能用于临床。

## 规格及成分:

编号	成分	规格
试剂一	5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	200 μL (橘黄盖)
试剂二	MMLV-Taq Mix	75 μL (红盖)
试剂三	超纯水	1 mL (亮黄盖)
试剂四	甲型肝炎病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂五	甲型肝炎病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E8 /μL)	50 μL (黄盖)
试剂六	使用手册	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。

## 运输及保存:

低温运输, -20℃保存, 保存期限为 12 个月。收到货后阳性对照需要跟其他成分分开放置, 因为其容易污染其他成分, 造成假阳性。

## 自备试剂:

样品 RNA。

## 使用方法:

### 一、样品 DNA 的制备:

1. 如果有 N 个样品, 必须设置 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 10μL 甲型肝炎病毒 PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液作为制备的阳性对照。可以用水作为制备的阴性对照。制备所得成为样品 RNA。
2. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 RNA, 本试剂盒跟市场上大多数病毒 RNA 提取试剂盒兼容。可以选购本公司的柱式病毒 RNAout。

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

3. 如果有 N+2 个样品, 则标记 N+4 个 PCR 管 (额外增加的两个管一个是 RT-PCR 阳性对照, 另一个是 RT-PCR 阴性对照) 并按照下表在 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
5 $\times$ 双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 $\mu\text{L}$	4 $\mu\text{L}$	4 $\mu\text{L}$
甲型肝炎病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 $\mu\text{L}$	--	--
超纯水	--	12.5 $\mu\text{L}$	--
甲型肝炎病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5 $\mu\text{L}$
MMLV-Taq Mix	1.5 $\mu\text{L}$	1.5 $\mu\text{L}$	1.5 $\mu\text{L}$

4. 上机进行 RT-PCR, RT-PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
逆转录	42 $^{\circ}\text{C}$	30 min
预变性	95 $^{\circ}\text{C}$	5 min
PCR 反应 35 个循环	95 $^{\circ}\text{C}$	30 sec
	58 $^{\circ}\text{C}$	30 sec
	72 $^{\circ}\text{C}$	20 sec
最后延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	7 min

**三、电泳检测:**

5. 琼脂糖电泳检测扩增效果。如果阴性对照有扩增产物或阳性对照无扩增产物, 则说明实验失败, 需要分析实验失败的原因。只有在阴性对照没有扩增产物、阳性对照必须有预期条

带出现，才有必要分析样品的实验结果，如果有预期片段大小的扩增产物则为阳性，若无则为阴性。

**所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**