

# 腮腺炎病毒 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:**

腮腺炎病毒(Mumps Virus, MV)是一种 RNA 病毒,人是腮腺炎病毒惟一宿主,病毒经飞沫传播,易感者为学龄期儿童,好发于冬春季节。本病潜伏期约 2~3 周,病毒侵入呼吸道上皮细胞和局部淋巴结内增殖后,进入血流,然后经血流侵入腮腺及其它腺体器官如睾丸、卵巢、胰腺、肾脏和中枢神经系统等。临床表现主要为一侧或双侧腮腺肿大,伴发热、乏力、肌肉疼痛等,并发睾丸炎者可导致男性不育症,腮腺炎也是导致儿童期获得性耳聋的常见原因,因此腮腺炎病毒的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用。本产品以探针法荧光定量 RT-PCR 技术为基础开发的专门检测腮腺炎病毒的试剂盒,

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. 根据腮腺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	腮腺炎病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂五	腮腺炎病毒 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 腮腺炎病毒 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  $\mu$ 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 $\mu$ L	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L
腮腺炎病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 $\mu$ L	--	--
超纯水	--	12.5 $\mu$ L	--
腮腺炎病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5 $\mu$ L
MMLV-Taq Mix	1.5 $\mu$ L	1.5 $\mu$ L	1.5 $\mu$ 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 $^{\circ}$ C	30 min
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95 $^{\circ}$ C	30 sec
	58 $^{\circ}$ C	30 sec
	72 $^{\circ}$ C	20 sec
最后延伸	72 $^{\circ}$ 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。**