



# 人免疫缺陷病毒 II 型 RT-PCR 试剂盒

## 产品及特点:

人类免疫缺陷病毒(Human Immunodeficiency Virus; HIV), 即艾滋病(AIDS, 获得性免疫缺陷综合征)病毒, 是造成人类免疫系统缺陷的一种病毒。它是一种感染人类免疫系统细胞的慢病毒(Lentivirus), 属逆转录病毒的一种。其中人类免疫缺陷病毒 I 型(感染)在一类致癌物清单中、人类免疫缺陷病毒 2 型(感染)在 2B 类致癌物清单中。本产品用于在科研领域快速定量检测人免疫缺陷病毒 II 型。

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. 根据人免疫缺陷病毒 II 型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

## 规格及成分:

编号	成分	规格
试剂一	5 $\times$ 双酶一管式 RT-PCR Buffer	200 $\mu$ L (橘黄盖)
试剂二	MMLV-Taq Mix	75 $\mu$ L (红盖)
试剂三	超纯水	1 mL (亮黄盖)
试剂四	人免疫缺陷病毒 II 型 RT-PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂五	人免疫缺陷病毒 II 型 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L)	50 $\mu$ L (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 人免疫缺陷病毒 II 型 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(20μL 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×双酶—管式 RT-PCR Buffer	各 4 μL	4 μL	4 μL



人免疫缺陷病毒 II 型 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	--
人免疫缺陷病毒 II 型 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°C	30 min
预变性	95°C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95°C	30 sec
	58°C	30 sec
	72°C	20 sec
最后延伸	72°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, 如果没有则为阴性。

**上海纪宁实业有限公司([www.shjning.com](http://www.shjning.com))所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。**

