



甲型流感(禽流感)病毒通用 RT-PCR 试剂盒

产品及特点:

甲型流感(禽流感)病毒(Influenza Virus A)会引发禽流感, 一般认为任何年龄均具有易感性, 但 12 岁以下儿童发病率较高, 病情较重。常见的症状有单纯型流感, 该症状仅有上呼吸道卡他性炎症变化, 黏膜可见充血、水肿及淋巴细胞浸润, 除此之外还有肺炎型流感, 甚至引起严重并发症, 导致急性呼吸窘迫综合征等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流感(禽流感)病毒。

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. 根据甲型流感(禽流感)病毒通用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 μ 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 \times 双酶一管式 RT-PCR Buffer	200 μ L(橘黄盖)
试剂二	MMLV-Taq Mix	75 μ L(红盖)
试剂三	超纯水	1 mL(亮黄盖)
试剂四	甲型流感(禽流感)病毒通用 RT-PCR 引物混合液	100 μ L(白盖)



试剂五	甲型流感(禽流感)病毒通用 RT-PCR 阳性对照($1 \times 10^8/\mu\text{L}$)	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°C 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 10 μL 甲型流感(禽流感)病毒通用 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 μL 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 μL	4 μL	4 μL



甲型流感(禽流感)病毒通用 RT-PCR 引物混合液	各 2 μ L	2 μ L	2 μ L
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 μ L	--	--
超纯水	--	12.5 μ L	--
甲型流感(禽流感)病毒通用 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5 μ L
MMLV-Taq Mix	1.5 μ L	1.5 μ L	1.5 μ 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, 若无则为阴性。

上海纪宁实业有限公司(www.shjning.com)所有产品仅供科研使用 不得用于其他用途

