



## 人副流感病毒 3 型探针法 qRT-PCR 试剂盒

Human Parainfluenza Virus 3 Probe qRT-PCR Kit

货号: JLC\_Y7187

使

用

说

明

书

| 产品及特点                                                                    | <p>人副流感病毒 3 型（Human Parainfluenza Virus 3, HPIV-3）是副流感病毒的一种分型，这种病毒感染人体后，起病比较急，患者可能会有流涕、鼻塞、发热、全身不适等症状。感染后易引起下呼吸道感染，出现呼吸困难、痉挛性咳嗽等症状。该病目前尚无特异性治疗方法，发现感染后，患者一般以休息和对症治疗为主。本产品就是以探针法 qRT-PCR 技术为基础开发的专门检测人副流感病毒 3 型 RNA 的试剂盒，<b>它具有下列特点：</b></p> <p>1. 即开即用，用户只需要提供样品 RNA 模板。</p> <p>2. 引物和探针经过优化，分析灵敏性高，可以达到 1000 拷贝/反应。</p> <p>3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。</p> <p>4. 特异性高，引物是根据人副流感病毒 3 型 RNA 高度保守区设计，不会跟其他生物的 RNA 发生交叉反应。</p> <p>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 各数量级。</p> <p>6. 本产品足够 50 次 20μL 体系的探针法 qRT-PCR 反应。</p> <p>7. 本产品只能用于科研。</p>                                                                               |           |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--|----|----|----|-----------------|-------|-----------|---------------------|------|-----------|----------------|-----|-----------|----------------------------|------|-----------|---------------------------------------|------|-----------|------|-----|---|------------|--|--|--------------------------------------------------------------------------|--|--|
| 规格及成分                                                                    | <table><tr><th>成分</th><th>规格</th><th>包装</th></tr><tr><td>探针法 qRT-PCR 缓冲液</td><td>500μL</td><td>0.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2</td><td>50μL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>荧光 PCR 模板专用稀释液</td><td>1mL</td><td>1.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 引物-探针干粉</td><td>50 次</td><td>0.5mL 棕色管</td></tr><tr><td>人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 阳性对照(1×10E7 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><tr><td colspan="3">本产品采用五孔盒包装</td></tr><tr><td colspan="3"><b>注 意：</b>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 162uL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。</td></tr></table> |           |  | 成分 | 规格 | 包装 | 探针法 qRT-PCR 缓冲液 | 500μL | 0.5mL 蓝盖管 | 探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2 | 50μL | 0.5mL 红盖管 | 荧光 PCR 模板专用稀释液 | 1mL | 1.5mL 绿盖管 | 人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 引物-探针干粉 | 50 次 | 0.5mL 棕色管 | 人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL) | 50μL | 0.5mL 黄盖管 | 使用手册 | 1 份 | 无 | 本产品采用五孔盒包装 |  |  | <b>注 意：</b> 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 162uL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。 |  |  |
| 成分                                                                       | 规格                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 包装        |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 探针法 qRT-PCR 缓冲液                                                          | 500μL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0.5mL 蓝盖管 |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2                                                      | 50μL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0.5mL 红盖管 |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 荧光 PCR 模板专用稀释液                                                           | 1mL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1.5mL 绿盖管 |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 引物-探针干粉                                               | 50 次                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0.5mL 棕色管 |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL)                                    | 50μL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0.5mL 黄盖管 |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 使用手册                                                                     | 1 份                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 无         |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 本产品采用五孔盒包装                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |           |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| <b>注 意：</b> 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 162uL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |           |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |
| 使用方法                                                                     | <p><b>稀释标准曲线样品</b>（以 10E1-10E6 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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |           |  |    |    |    |                 |       |           |                     |      |           |                |     |           |                            |      |           |                                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                          |  |  |

- 片段作为阳性对照。如果需要 RNA 阳性样品，需要另外订购。
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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$   $1\times 10^7$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(试剂盒提供),充分震荡 1 分钟,得  $1\times 10^6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
  4. 换枪头,在 5 号管中加入 5  $\mu\text{L}$   $1\times 10^6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  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/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
  5. 换枪头,在 4 号管中加入 5  $\mu\text{L}$   $1\times 10^5$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(上步稀释所得),充分震荡 1 分钟,得  $1\times 10^4$  拷贝/ $\mu\text{L}$  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 $\mu\text{L}$  上步所得 4 号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次样本制备所要求的起始样本体积一样，以此作为 PC。另外用水作为 NC。
8. 用自选方法纯化样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数 RNA 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 qRT-PCR 反应 (20 $\mu\text{L}$  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 RT-PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 RT-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 RT-PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 RT-PCR 阴性对照（用水做模板），1 个用于 RT-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<br>N+2 个                      | RT-PCR<br>阴性对照 | 标准曲线样品管<br>(1-6 管) |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|----------------|--------------------|----|----|----|-----|-----|--------|-----|-----|-------|--------------------|-----|--------|-----|-----------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 探针法 qRT-PCR 缓冲液             | 各 10μL                            | 10μL           | 各 10 μL            |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2         | 各 1μL                             | 1μL            | 各 1μL              |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 人副流感病毒 3 型 qRT-PCR 引物-探针混合液 | 各 3μL                             | 3μL            | 各 3μL              |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | N+2 个待测 RNA 样本              | 各 6μL                             | 不加             | 不加                 |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 超纯水                         | 不加                                | 6μL            | 不加                 |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 第 6 步所得标准曲线样品稀释液 (1-6 号)    | 不加                                | 不加             | 各 6 μL             |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| 11. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 RT-PCR：                                                                                                                                                                                                                                                                         |                             |                                   |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| <table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>预变性</td><td>50℃</td><td>10min.</td></tr><tr><td>预变性</td><td>95℃</td><td>3min.</td></tr><tr><td rowspan="2">PCR 反应<br/>(45 个循环)</td><td>95℃</td><td>15sec.</td></tr><tr><td>60℃</td><td>60sec (采集 FAM 通道的荧光信号，淬灭基团为 BHQ1)</td></tr></table> |                             |                                   |                |                    | 过程 | 温度 | 时间 | 预变性 | 50℃ | 10min. | 预变性 | 95℃ | 3min. | PCR 反应<br>(45 个循环) | 95℃ | 15sec. | 60℃ | 60sec (采集 FAM 通道的荧光信号，淬灭基团为 BHQ1) |
| 过程                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 温度                          | 时间                                |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| 预变性                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 50℃                         | 10min.                            |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| 预变性                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 95℃                         | 3min.                             |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| PCR 反应<br>(45 个循环)                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 95℃                         | 15sec.                            |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 60℃                         | 60sec (采集 FAM 通道的荧光信号，淬灭基团为 BHQ1) |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| 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 RNA 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 Ct 必须没有读数，或者大于或等于 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。对待测样品，如果其 Ct 没有读数、大于或等于 40 则均为阴性，如果小于 40 则为阳性。                                                                                                                                                              |                             |                                   |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |
| 自备试剂                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 样品 RNA。                     |                                   |                |                    |    |    |    |     |     |        |     |     |       |                    |     |        |     |                                   |

**运输及保存**

低温运输，-20℃保存，有效期 2 年。

**生产企业：上海机纯实业有限公司****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：021-54720761****技术支持：13166274223**