



## 人类内源性逆转录病毒 R 家族探针法 qRT-LAMP 试剂盒

Human Endogenous Retroviruses R family Probe qRT-LAMP Kitt

货号: JLC\_Y7446

使

用

说

明

书

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>产品及特点</p> | <p>人类内源性逆转录病毒 (Human Endogenous Retroviruses, HERV) 是人类基因组中的一部分, 它们源自于灵长类动物进化历程中遭遇的外源性逆转录病毒。这些古老的病毒序列约占人类基因组的 8%。在这些人类内源性逆转录病毒中, 人类内源性逆转录病毒 R 家族 (Human Endogenous Retroviruses R family , HERV-R) 尤为典型, 它们在人类基因组中留下了约 50 个不同的拷贝。研究表明, 人类内源性逆转录病毒 R 家族序列在特定人体组织中显示出较高的 RNA 表达水平, 特别是在那些依赖激素的器官和细胞、具有融合功能的组织, 以及那些与外界环境直接接触的组织中。这些发现揭示了人类内源性逆转录病毒 R 家族在人类生物学中的潜在作用, 尤其是在生殖、免疫反应和神经系统功能等方面, 因此快速灵敏诊断 IPNV 具有重要意义。为此本公司根据探针法 qRT-LMAP 技术, 开发了简单快捷的人类内源性逆转录病毒 R 家族 qRT-LAMP 检测试剂盒, <u>它具有下列特点:</u></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 即开即用, 用户只需要提供病毒 RNA 样品。</li><li>2. 恒温扩增, 反应设置更加简单。</li><li>3. 含荧光探针, 可以对扩增进行实时荧光检测 (需要荧光 PCR 仪) 。</li><li>4. 检测灵敏性一般比 RT-PCR 高 10 倍以上。</li><li>5. 特异性高, 引物是根据人类内源性逆转录病毒 R 家族 RNA 保守序列设计的, 不会跟其他型别埃柯病毒及其他生物的 RNA 发生交叉反应。</li><li>6. 一般 30 分钟内出结果, 比 qRT-PCR 快。</li><li>7. 提供无传染性的阳性对照, 便于分析实验结果。</li><li>8. 上样量大, 对 20 μL 的反应体系, 样品加样量高达 14 μL。</li><li>9. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。</li><li>10. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 qRT-LAMP 扩增。</li><li>11. 本产品只可用于科研。</li></ol> |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |        |            |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|------------|
| 规格及成分 | 成分                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 规格     | 包装         |
|       | RT-LAMP MasterMix (探针法待加酶)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 200 μL | 0.5mL 本色盖  |
|       | 逆转录酶-扩增酶混合液                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 100 μL | 0.5mL 红盖管  |
|       | 20×人类内源性逆转录病毒 R 家族探针法 qRT-LAMP 引物-探针干粉                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 50 次   | 0.5 mL 白色管 |
|       | 人类内源性逆转录病毒 R 家族阳性对照 (1E7 拷贝/μL)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 250 μL | 0.5 mL 黄盖管 |
|       | 超纯水                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 1mL    | 1.5mL 蓝盖管  |
|       | 使用手册                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1 份    | 无          |
|       | 本产品采购五孔盒包装                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |        |            |
|       | <b>注 意:</b> 引物干粉在使用前需要短暂离心, 然后在离心管中加入 55 μL 的超纯水充分混匀和再使用, 未用完的需要-20℃保存。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |        |            |
| 使用方法  | <p><b>一、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 RNA 片段作为阳性对照。如果需要 RNA 阳性样品, 需要另外订购。</p> <p>1. 标记 6 个离心管, 分别为 6, 5, 4, 3, 2, 1。</p> <p>2. 用带芯枪头分别加入 45 μL 荧光 PCR 专用模板稀释液, 用带芯枪头, 下同)。</p> <p>3. 在 6 号管中加入 5 μL 1E7 拷贝/mL 的阳性对照(试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得 1E6 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</p> <p>4. 换枪头, 在 5 号管中加入 5 μL 1E6 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 1E5 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</p> <p>5. 换枪头, 在 4 号管中加入 5 μL 1E5 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 1E4 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</p> <p>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。</p> |        |            |
|       | <p><b>二、样品 RNA 的制备</b></p> <p>7. 用自选方法纯化样品 RNA, 本试剂盒跟市场上大多数 RNA 提取试剂盒兼容, 包括本公司的免</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |        |            |

提取的核酸释放剂。

8. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个样品制备，包括一个样品制备阳性对照（PC）和一个样品制备阴性对照（NC）。PC 用 10 μL 本试剂盒提供的阳性对照（1E7 拷贝/μL）加一定量的水充当，总体积必须核酸纯化试剂盒所要求的起始样品体积一样，NC 用水替代。

**三、探针法 qRT-LAMP 反应 (20μL 体系)**

9. 注意：第一次使用一个新的试剂盒时，必须先将 100 μL 逆转录酶-扩增酶混合液全部加入到 qRT-LAMP MasterMix（探针法，待加酶）中，盖上盖子后轻柔颠倒 1 分钟混匀，然后再取用。如果只做 1 次重复，则标记 N+9 个 RT-LAMP 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 RT-LAMP 阴性对照（用水做模板），6 个用于标准曲线。

10. 反应设置：如果有 N+2 个 RNA 纯化样品，则设置 N+4 个 qRT-LAMP 扩增，增加 qRT-LAMP 阴性对照和 qRT-LAMP 阳性对照各 1 个。在 N+4 个 qRT-LAMP 个管中加入下列成分：

| 成分                                           | N+2<br>个样品管 | qRT-LAMP<br>阴性对照 | RT-LAMP<br>阳性对照 |
|----------------------------------------------|-------------|------------------|-----------------|
| qRT-LAMP MasterMix（探针法，加酶后）                  | 各 6 μL      | 6 μL             | 6 μL            |
| 20×人类内源性逆转录病毒 R 家族探针法 qRT-LAMP<br>引物-探针混合液   | 各 1 μL      | 1 μL             | 1 μL            |
| N+2 个样品 RNA                                  | 各 13 μL     | -                | -               |
| 超纯水                                          | -           | 13 μL            | -               |
| 人类内源性逆转录病毒 R 家族 qRT-LAMP 阳性对照<br>(1E7 拷贝/μL) | -           | -                | 各 13 μL         |

11. 本产品必须使用荧光 PCR 仪器进行扩增。设置 60 次循环，每次循环 65℃保温 1 分钟，采集 FAM 通道的荧光信号。

**三. 结果分析**

12. 若只判断阳性或阴性，则阴性对照 Ct 值必须没有读数，或者大于或等于 40。样品制备阳性对照和 qRT-LAMP 阳性对照必须有荧光对数增长，有标准的 S 扩增曲线，Ct 值应该小于 40。样品

|              |                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|              | <p>制备阴性对照和 qRT-LAMP 阴性对照 Ct 值必须没有读数、大于或等于 40，如果小于 40 则为阳性。</p> <p><b>13.</b> 如果阳性和阴性对照结果正常，则实验有效，可以分析样品的情况。</p> <p>若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。</p> |
| <b>自备试剂</b>  | 待测样品。                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>运输及保存</b> | 低温运输，-20℃保存，有效期 1 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**