

# 人副流感病毒 2 型 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：13166274223(微信同号)

## 产品及特点:

人副流感病毒 (Human Parainfluenza Virus, HPIV) 常常引起儿童下呼吸道感染的一种病毒，其致病性仅次于呼吸道合胞病毒 (RSV)。与 RSV 一样，人类副流感病毒可以造成反复发作的上呼吸道感染（如感冒和喉咙痛）。它也能造成严重的反复感染的下呼吸道疾病（如肺炎，支气管炎和细支气管炎），特别是在老年人中和有免疫缺陷人群中。人类副流感病毒的四种亚型各有不同的临床和流行病学特征。III 型经常导致肺炎和细支气管炎。本产品是根据 PCR 原理开发的人副流感病毒 2 型检测的试剂盒。

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. 根据人副流感病毒 3 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。
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 | 人副流感病毒 2 型 RT-PCR 引物混合液              | 100 μL (白盖)  |
| 试剂五 | 人副流感病毒 2 型 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 人副流感病毒 3 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(20  $\mu\text{L}$  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 $\mu\text{L}$    | 4 $\mu\text{L}$    | 4 $\mu\text{L}$    |
| 人副流感病毒 2 型 RT-PCR 引物混合液           | 各 2 $\mu\text{L}$    | 2 $\mu\text{L}$    | 2 $\mu\text{L}$    |
| N+2 个制备的 RNA 样品                   | 各 12.5 $\mu\text{L}$ | --                 | --                 |
| 超纯水                               | --                   | 12.5 $\mu\text{L}$ | --                 |
| 人副流感病毒 2 型 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液 | --                   | --                 | 12.5 $\mu\text{L}$ |
| MMLV-Taq Mix                      | 1.5 $\mu\text{L}$    | 1.5 $\mu\text{L}$  | 1.5 $\mu\text{L}$  |

4. 上机进行 RT-PCR, RT-PCR 反应参数为:

| 过程            | 温度                    | 时间     |
|---------------|-----------------------|--------|
| 逆转录           | 42 $^{\circ}\text{C}$ | 30 min |
| 预变性           | 95 $^{\circ}\text{C}$ | 5 min  |
| PCR 反应 35 个循环 | 95 $^{\circ}\text{C}$ | 30 sec |
|               | 58 $^{\circ}\text{C}$ | 30 sec |
|               | 72 $^{\circ}\text{C}$ | 20 sec |
| 最后延伸          | 72 $^{\circ}\text{C}$ | 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。**