天净沙系列

CAT#:13-20400

低温运输，-20℃保存

天净沙

麻疹病毒电泳法 RT-PCR 试剂盒

Measles Virus RT-PCR Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

麻疹病毒(Measles Virus，MV)属于副粘病毒科麻疹病毒属，为负义单链 RNA 病毒，基因组全长约 16 knt。在外界环境中抵抗力不算强，对干燥、日光、高温和一般消毒剂都没有抵抗力。能耐寒不怕冻，总是冬春季节出来发作。潜伏期较规则，约 10±2 天，有被动免疫者可延至 20-28 天。在潜伏期末可有低热。临床上以发热、上呼吸道炎症、眼结膜炎等而以皮肤出现红色斑丘疹和颊粘膜上有麻疹粘膜斑及疹退后遗留色素沉着伴糠麸样脱屑为特征。麻疹是儿童最常见的急性呼吸道传染病之一，其传染性很强，在人口密集而未普种疫苗的地区易发生流行约 2-3 年发生一次大流行，严重威胁人类健康，因此快速检测麻疹病毒具有重要的意义。本产品就是以 RT-PCR 技术为基础开发的专门检测麻疹病毒的试剂盒，它具有下列特点:

1. 即开即用，用户只需要提供样品 RNA 模板。
2. 产品经过精心优化，分析灵敏度可达达 100 拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性结果。
4. 特异性高，引物是根据麻疹病毒 RNA 高度保守区设计，分析发现它能检测麻疹病毒，不会跟除此之外的其他生物的 RNA 发生交叉反应。
5. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的常规 PCR 反应。
6. 本产品只能用于定性实验，不能用于定量实验。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装
2×RT-PCR Buffer	91202a	0.5 mL	0.5 mL 本色管
10×RT-PCR 酶混合液	91202b	50 μL	0.5 mL 红盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
麻疹病毒 RT-PCR 引物干粉	yw13-20400	50 次	0.5 mL 白盖管
麻疹病毒 RT-PCR 阳性对照（1E4 拷贝/μL）	pc20400	250 μL	0.5 mL 黄盖管
使用手册	13-20400sc	1 份	无

注：引物干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 110 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。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。如果需要 RNA 片段作为阳性对照的需要单独定制。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

自备试剂	样品 RNA
使用方法	**一、样品 RNA 的制备** 1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取反应，多出的两个中一个是 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用试剂盒提供的 PCR 阳性对照（1E4 拷贝/μL，本试剂盒提供）10 μL 加上一定量的水作为制备的阳性对照（加水后其总体积跟核酸制备试剂盒所要求的起始样品体积一样）。可以直接用水作为制备的阴性对照。 2. 用自选方法纯化上述 N+2 个样品的 RNA。本试剂盒跟市场上大多数样品 RNA 提取试剂盒兼容。也可以选用本公司的相关的核酸提取试剂盒。 **二、设置 RT-PCR 反应（20 μL 体系）** 3. 标记 N+4 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 RNA 样品，额外增加的两个管一个用于 PCR 阳性对照，另一个用于 RT-PCR 阴性对照。按照下表在各 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
2×RT-PCR Buffer	各 10 μL	10 μL	10 μL
10×RT-PCR 酶混合液	1 μL	1 μL	1 μL
麻疹病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
制备的 N+2 个 RNA 样品	各 7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加
麻疹病毒 RT-PCR 阳性对照 (1E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL

4. 上机进行 RT-PCR，RT-PCR 反应参数为:

过程	**温度**	**时间**
逆转录	42℃	55 min
预变性	95℃	5 min
PCR 反应 (30 个循环)	95℃	15 sec
	55℃	60 sec
	65℃	60 sec
延伸	72℃	10 min

三、电泳分析

5. 取 10 μL 扩增产物进行常规琼脂糖电泳，检测扩增效果，由于扩增产物较短，建议

	用 1.5%-2.0%的琼脂糖凝胶。 6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为 110 bp。如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或 RT-PCR 阴性对照）有此扩增产物，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析实验结果。如果所有样品和 RT-PCR 阳性对照均无此扩增产物，则说明有系统性的问题（试剂，设备，程序，操作等），需要重复并排查原因。 7. 如果没有上述两种情况，则实验有效，可以分析样品的扩增结果。N+2 个样品中扩增产物的判断为阳性，无则判定为阴性。
关联产品	麻疹病毒荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒

20250530ztl