天净沙系列

CAT#:15-30260-3

低温运输，-20℃保存

人疱疹病毒 6 型，7 型，8 型三重探针法 PCR 试剂盒

Human Herpesvirus 6，7，8 Probe PCR Kit

使用手册 V1.0

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

人疱疹病毒（Human herpes virus，HHV 是一类双链 DNA 病毒，基因组大小 125-240 kb（不同型别差异较大），外有包膜。目前已知的 9 种人疱疹病毒中，HHV-6（分 A/B 亚型）、HHV-7、HHV-8 均属于β或γ疱疹病毒亚科：HHV-6 A/B 和 HHV-7 可感染 T 细胞，引起幼儿玫瑰糠疹（突发性皮疹），并与慢性疲劳综合征、脑炎相关；HHV-8 则与卡波西肉瘤、原发性渗出性淋巴瘤等恶性肿瘤密切相关，尤其在艾滋病患者中高发。传播途径多样：HHV-6/7 主要通过唾液传播，HHV-8 则经唾液、性接触或输血传播。感染后多表现为潜伏感染，免疫低下时再激活，导致发热、皮疹或肿瘤。疱疹病毒的终身潜伏性和致癌潜力使其在公共卫生和肿瘤研究中至关重要。本产品就是以探针法 PCR 技术为基础开发的相关试剂盒。它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。
2. 引物和探针经过优化，分析灵敏性高，可以达到 100 拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，便于排除假阴性结果。
4. 特异性高，引物和探针分别根据人疱疹病毒 6 型，7 型，8 型高度保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 或疱疹病毒的其他基因发生交叉反应。
5. 本产品只用于定性检测，不推荐用于定量检测。
6. HHV-6 型，7 型和 8 型基因分别用 HEX、FAM 和 ROX 标记的三个探针检测。
7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 qPCR 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用十孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	981201	500 μL	0.5 mL 本色管
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5 mL 绿盖管
HHV-6 型，7 型，8 型 三重 PCR 引物-探针干粉	yp15-30260-3	50 次	0.5 mL 棕色管
HHV-6 型阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	pc30260 -KP257584	50 μL	0.5 mL 红色管
HHV-7 型阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	pc30270 -AF037218	50 μL	0.5 mL 白色管
HHV-8 型阳性对照 （1E4 拷贝/μL）	pc30280 -NC_009333	50 μL	0.5 mL 黄盖管
使用手册	15-30260-3sc	1 份	无

注意：在使用前需要短暂离心引物-探针干粉管，然后在离心管中加入 165 μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

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 DNA。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 如果有 N 个样品，最好设置 N+2 个提取，多出的一个是样本制备 PC（阳性对照），一个是样本制备 NC（阴性对照）。可以用自备的、确定三个基因为阳性的样本作为样品制备 PC。可以用自备的、确定是阴性的样本作为样品制备 NC，可以用水替代。
2. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。

二、Probe PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）

3. 如果有 N+2 个核酸提取，则设置 N+6 个 PCR 反应，多出的 4 个 1 个用于 PCR NC，另外三个分别用于三个待检测基因的 PCR PC。在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复）：

成分	样品管 N+2 个	PCR NC	HHV-6 PC	HHV-7 PC	HHV-8 PC
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
HHV-6 型，7 型，8 型 三重 PCR 引物-探针溶液	各 3 μL	3 μL	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA	各 7 μL	不加	不加	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加	不加	不加
HHV-6 型阳性 对照（1E4 拷贝/μL）	不加	不加	7 μL	不加	不加
HHV-7 型阳性 对照（1E4 拷贝/μL）	不加	不加	不加	7 μL	不加
HHV-8 型阳性 对照（1E4 拷贝/μL）	不加	不加	不加	不加	7 μL

4. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 PCR:

过程	温度	时间
预变性	95℃	5 min
PCR 反应 （45 个循环）	95℃	15 sec
	50℃	30 sec
	72℃	60 sec（采集 FAM 通道、HEX 通道和 ROX 通道的荧光信号，淬灭基团均为 TAMRA）

三、数据分析

5. 原始数据分析。如果 FAM 通道、HEX 通道和 ROX 通道的 Ct 大于或等于 40，或者没有 Ct 值，则判为该通道阴性。如果 Ct 小于 40，并且荧光信号呈现倒 S

	的典型扩增曲线，则判断为该通道阳性。 6. 实验有效性分析： 6.1、PC：所有 PC 反应应该在对应的通道呈现阳性，如 HHV-6 型 PC 应该为 HEX 通道阳性，HHV-7 型 PC 应该为 FAM 通道阳性。如果样本制备 PC 在其对应的通道为阴性，则整个样本制备实验无效。如果三个基因的 PCR PC 在其对应的通道为阴性（如 HHV-7 型 PC 为 FAM 通道阴性），则整个 PCR 扩增实验无效。样本制备无效和扩增实验无效时均不需要分析数据，需要找到原因后再进行后续实验，可能原因包括操作失误、试剂变质或仪器故障。 6.2、NC：样本制备 NC 和 PCR NC 应该在所有通道呈阴性。如果样本制备 NC 或 PCR NC 结果在任何通道为阳性，则整个样本制备和 PCR 扩增实验无效，不需要分析数据，需要找到原因后再进行后续实验。可能原因是环境污染。 6.3、如果 PC 和 NC 均正常，则实验有效，可以对待测样本结果进行分析。 7. 样本结果分析：如果 FAM 通道、HEX 通道和 ROX 通道的 Ct 大于或等于 40，或者没有 Ct 值，则判为阴性。如果 Ct 小于 40，并且荧光信号呈现倒 S 的典型扩增曲线，则判断为该通道对应的基因阳性。HEX 通道阳性则表示含有 HHV-6 型基因，FAM 通道阳性则表示含有 HHV-7 型基因，ROX 通道阳性则表示含有 HHV-8 型基因。
关联产品	人疱疹病毒 6 型，7 型，8 型三重染料法荧光定量 PCR 试剂盒