天净沙系列

CAT#:15-30400

低温运输，-20℃保存

天净沙

人乳头瘤病毒 13 种高危型通用探针法 PCR 试剂盒

13 High-Risk Human Papillomavirus Probe PCR Kit

使用手册 V1.01

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

人乳头瘤病毒（Human papillomavirus，HPV）是一种嗜上皮性病毒，能引起宫颈癌，它有 100 多个亚型，其中 13 个属于高危型，其余都是低危型。高危型 HPV 持续感染是宫颈癌等多种恶性肿瘤的病因；因此快速检测这 13 种高危型的人乳头病毒具有重要意义，本产品就是以探针法 PCR 技术为基础开发的专门检测 13 种高危型人乳头瘤病毒的通用试剂盒，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，分析灵敏度高，可以达到 100 拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据人乳头瘤病毒 DNA 高度保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。
5. 可检测 13 种高危型 HPV，分别是 HPV-16、HPV-18、HPV-31、HPV-33、HPV-35、HPV-39、HPV-45、HPV-51、HPV-52、HPV-56、HPV-58、HPV-59 和 HPV-68。
6. 可用于定性检测，不推荐用于定量检测。
7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法荧光 PCR 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	981201	0.5 mL	0.5 mL 本色盖
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5 mL 绿盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
人乳头瘤病毒 13 种高危型通用 PCR 引物-探针干粉 v2.0	yp15-30400dx3-2	50 次	0.5 mL 棕色管
人乳头瘤病毒 13 种高危型通用 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	pc30445-X74479-L1	50 μL	0.5 mL 黄盖管
使用手册	15-30400sc	1 份	无

注：首次使用本试剂盒前，请将引物-探针干粉管短暂离心，然后加入 165 μL 超纯水，涡旋震荡半分钟混匀，短暂离心后放冰上待用。未用完的本成分需放-20℃保存。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期 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 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 μL 浓度为 1E4 拷贝/μL 的人乳头瘤病毒 13 种高危型通用 PCR 阳性对照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。

2. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 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 PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）

3. 做定性分析并且只做 1 次重复，则标记 N+4 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 PCR 阴性对照（用水做模板），1 个用于 PCR 阳性对照（直接用浓度为 1E4 拷贝/μL 的人乳头瘤病毒 13 种高危型通用 PCR 阳性对照）。

4. 在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复。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最后加）：

成分	样品管 N+2 个	PCR 阴性 对照	PCR 阳性 对照
2×Probe qPCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL
人乳头瘤病毒 13 种高危型通用 qPCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA 样本	各 7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加
人乳头瘤病毒 13 种高危型通用 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	不加	不加	7 μL

5. 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
	55℃	30 sec
	72℃	30 sec（采集 FAM 通道的荧光信号，设置 MGB 为淬灭基团）

四、数据处理

6. 如果样本制备阳性对照或 PCR 阳性对照结果为阴性，则整个实验无效，不需要分析数据，需要重新样本制备，重新进行 PCR 扩增或跟厂家联系。如果样本制备阴性对照或 PCR 阴性对照结果为阳性，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系。

	7. 如果阴性对照和阳性对照均正常，则实验有效，可以进入后续分析。 8. 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 36。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 36。对待测样品，如果其 Ct 没有读数、大于或等于 36 则均为阴性，如果小于 36 则为阳性。
关联产品	人乳头瘤病毒 13 种高危型通用可视化染料-荧光染料 LAMP 试剂盒

20230530lyl-251217wmx