天净沙系列

CAT#:19-55900

低温运输，-20℃保存

天净沙

乙型肝炎病毒前基因组 RNA 探针法 RNA 恒温扩增试剂盒（不含内参）

Hepatitis B Virus Pregenomic RNA Probe RNA Isothermal Amplification Kit

使用手册 V0.51

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

本公司根据独有的探针法恒温扩增技术，开发了简单快捷的乙型肝炎病毒前基因组 RNA 探针法 RNA 恒温扩增检测试剂盒，它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供 RNA 样品。
2. 恒温扩增，简单快捷。
3. 含荧光探针，扩增的专一性比染料法和电泳法更强。
4. 检测灵敏性一般比 RT-PCR 高 10 倍以上。
5. 一般 35 分钟内出结果，比 RT-PCR 快。
6. 引物根据乙型肝炎病毒前基因组 RNA 基因组的保守区设计，不会跟其他生物的 RNA 发生交叉反应。
7. 上样量大，对 20 μL 的反应体系，最大样品加样量高达到 12 μL。
8. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。
9. 提供无传染性的阳性对照，便于分析实验结果。
10. 本产品只能用于定性分析，不推荐用于定量分析。
11. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 RNA 恒温扩增扩增。
12. 只可用于科研。

规格及成分

本产品采购 5 孔盒包装

成份	编号	规格	包装
RNA 恒温扩增 MasterMix （探针法，待加酶）	220305a	200 μL	0.5 mL 本色管
逆转录酶-扩增酶混合液	211208b	100 μL	0.5 mL 红盖管
20×乙型肝炎病毒前基因组 RNA RNA 恒温扩增引物-探针干粉	yp19-55900	50 次	1.5 mL 棕色管
乙型肝炎病毒前基因组 RNA RNA 恒温扩增阳性对照（1E4 拷贝/μL）	pc55900	250 μL	0.5 mL 黄盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	19-55900sc	1 份	无

注意：使用前请在 RNA 恒温扩增引物-探针干粉中加入 110 μL 超纯水，充分震荡半分钟溶解。没用完的需要放-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

待测样品。

使用方法

一、样品 RNA 的制备

1. 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，包括本公司的免提取的核酸释放剂。

2. 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 10μL 本试剂盒提供的阳性对照（1×1E4 拷贝/μL）加一定量的水作为样品制备 PC，加水后的总体积跟所用核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。NC 用水替代。

二、RNA 恒温扩增反应（20 μL 体系）

3. 反应设置：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 RNA 恒温扩增 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。

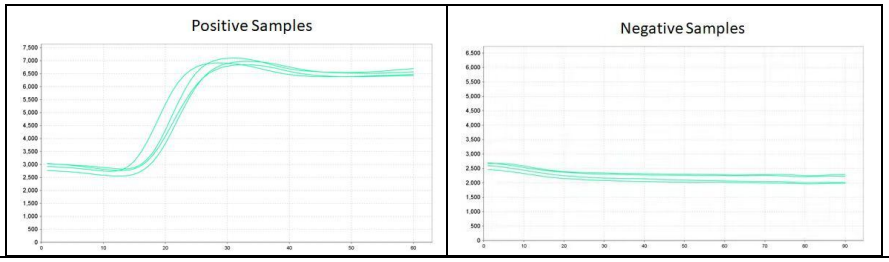
4. 反应设置：如果有 N+2 个 RNA 纯化样品，则最好设置 N+4 个 RNA 恒温扩增扩增，增加 RNA 恒温扩增阴性对照和 RNA 恒温扩增阳性对照各 1 个。在 N+4 个 PCR 管中加入下列成分：

成分	N+2 个样品管	RNA 恒温扩增阴性对照	RNA 恒温扩增阳性对照
RNA 恒温扩增 MasterMix（探针法，已加酶）	各 6 μL	6 μL	6 μL
20×乙型肝炎病毒前基因组 RNA RNA 恒温扩增引物-探针混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
N+2 个样品 RNA	各 12 μL	-	-
超纯水	-	12 μL	-
乙型肝炎病毒前基因组 RNA RNA 恒温扩增阳性对照（1E4 拷贝/μL）	-	-	12 μL

5. 置于荧光定量 PCR 仪中 65℃保温 60 分钟进行扩增，每分钟在 FAM 通道采集一次荧光信号。

三、结果分析

6. 样品制备阳性对照和 RNA 恒温扩增阳性对照的反应液将有标准的 S 扩增曲线，样品制备阴性对照和 RNA 恒温扩增阴性对照的反应液将没呈平线，没有 S 曲线，否则提取实验或扩增实验无效。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。样品管的荧光曲线为 S 型，则说明样品为阳性，如果为平线则说明待测样品为阴性。典型的荧光检测结果见下图。左边为阳性，右边为阴性。



关联产品 乙型肝炎病毒前基因组 RNA 可视化染料-荧光染料双染料法 RNA 恒温扩增试剂盒