



人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株探针法 qRT-PCR 试剂盒

Human Poliovirus Sabin Strain Probe qRT-PCR Kit

货号: JLC_Y7523

使

用

说

明

书

产品及特点

人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 (Human Poliovirus Sabin Strain) 是一种重要的疫苗生产毒株，用于制备脊髓灰质炎灭活疫苗，以预防由脊髓灰质炎病毒引起的急性传染病——脊髓灰质炎，又称小儿麻痹症。Sabin 株是由美国病毒学家 Albert B. Sabin 在 20 世纪 50 年代通过减毒处理得到的脊髓灰质炎病毒毒株。这些毒株保留了病毒的免疫原性，但大大降低了其致病性，因此被广泛应用于疫苗生产。接种 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗可以诱导机体产生主动免疫，预防由脊髓灰质炎 1 型、2 型和 3 型病毒导致的脊髓灰质炎。Sabin 株疫苗的应用对于全球脊髓灰质炎的防控起到了极其重要的作用。在其广泛使用后，全球脊髓灰质炎的发病例数大幅下降，许多国家和地区成功消除了脊髓灰质炎的本土传播。因此快速检测人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株具有重要的意义。为此，本公司以探针法 qRT-PCR 技术为基础开发了人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株的检测试剂盒，**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. 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，引物是根据人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 RNA 高度保守区设计，不会跟其他生物的 RNA 发生交叉反应，可以检测 Sabin 株 I、II、III 型。
- 5. 只要用于定性检测。
- 6. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 qRT-PCR 反应。
- 7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

成分	规格	包装
探针法 qRT-PCR 缓冲液	500 μL	0.5 mL 蓝盖管
探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	50 μL	0.5 mL 红盖管
荧光 PCR 专用模板稀释液	1 mL	1.5 mL 绿盖管
人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 引物-探针溶液	150 次	0.5 mL 棕色管
人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	50 μL	0.5 mL 黄盖管
使用手册	1 份	1 份
本产品采用五孔盒包装		

	注 意： 引物-探针溶液含有三种引物-探针，分别对应 Sabin 三个型。阳性对照也是三个 Sabin 株系 DNA 的混合液。																															
使用方法	一、样品 DNA 的制备																															
	1. 如果有 N 个样品，设置 N+2 个提取，多出的一个是 PC（样品制备阳性对照，用已知为阳性的样本），一个是 NC（样品制备阴性对照，用已知为阳性的样本）。																															
	2. 用自选方法纯化样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数 RNA 提取试剂盒兼容，也可以选购本公司的免提取核酸释放剂。																															
	二、Probe qRT-PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）																															
	3. 则标记 N+4 个 RT-PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 RT-PCR 阴性对照（用水做模板），1 个用于 RT-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加）：																															
	<table><tr><th>成分</th><th>样品管 N+2 个</th><th>RT-PCR 阴性对照</th><th>标准曲线样品管 (1-6 管)</th></tr><tr><td>探针法 qRT-PCR 缓冲液</td><td>各 10 μL</td><td>10 μL</td><td>各 10 μL</td></tr><tr><td>探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2</td><td>各 1 μL</td><td>1 μL</td><td>1 μL</td></tr><tr><td>人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 引物-探针混合液</td><td>各 3 μL</td><td>3 μL</td><td>3 μL</td></tr><tr><td>N+2 个待测 RNA 样本</td><td>各 6μL</td><td>不加</td><td>不加</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>不加</td><td>6 μL</td><td>不加</td></tr><tr><td>脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 阳性对照</td><td>不加</td><td>不加</td><td>6 μL</td></tr></table>				成分	样品管 N+2 个	RT-PCR 阴性对照	标准曲线样品管 (1-6 管)	探针法 qRT-PCR 缓冲液	各 10 μL	10 μL	各 10 μL	探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	各 1 μL	1 μL	1 μL	人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL	N+2 个待测 RNA 样本	各 6μL	不加	不加	超纯水	不加	6 μL	不加	脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 阳性对照	不加	不加	6 μL
	成分	样品管 N+2 个	RT-PCR 阴性对照	标准曲线样品管 (1-6 管)																												
	探针法 qRT-PCR 缓冲液	各 10 μL	10 μL	各 10 μL																												
	探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	各 1 μL	1 μL	1 μL																												
人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 引物-探针混合液	各 3 μL	3 μL	3 μL																													
N+2 个待测 RNA 样本	各 6μL	不加	不加																													
超纯水	不加	6 μL	不加																													
脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 阳性对照	不加	不加	6 μL																													
11. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 qRT-PCR：																																
<table><tr><th>过程</th><th>温度</th><th>时间</th></tr><tr><td>逆转录</td><td>50℃</td><td>10 min.</td></tr></table>				过程	温度	时间	逆转录	50℃	10 min.																							
过程	温度	时间																														
逆转录	50℃	10 min.																														

	预变性	95℃	10 min.
	PCR 反应 (40 个循环)	95℃	15 sec.
		60℃	60 sec (采集 Cy5、FAM 和 ROX 通道的荧光信号， 淬灭基团为 NFQ)
四、数据处理 6. 如果样本制备阳性对照或 RT-PCR 阳性对照(包括标曲样本)任何一个通道结果为阴性，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 RT-PCR 扩增或跟厂家联系。如果样本制备阴性对照或 RT-PCR 阴性对照任何一个通道的结果为阳性，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，如果待测样本三个通道中所有通道的 Ct 必须没有读数，或者大于或等于 35 则判为阴性。如果三个通道中任何一个通道有荧光对数增长，有典型扩增曲线，Ct 值小于 35，则判断为阳性。			
自备试剂	样品 RNA，超纯水，核酸纯化试剂盒。		
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。		

生产企业: 上海机纯实业有限公司

公司地址: 上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603

公司电话: 021-54720761

技术支持: 13166274223