

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

目录号: [ml107567](#)

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 μ L 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 μ L	0.5 mL 蓝盖管
探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	50 μ L	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 μ L	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/ μ L)	50 μ L	0.5 mL 黄盖管
使用手册	1 份	无
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 RNA 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 μ L 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) :

成分	样品管 N+2 个	RT-PCR 阴性对照	RT-PCR 阳性对照
探针法 qRT-PCR 缓冲液	各 10 μ L	10 μ L	10 μ L
探针法 qRT-PCR 酶混合液 v2	各 1 μ L	1 μ L	1 μ L
人脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 引物-探针混合液	各 3 μ L	3 μ L	3 μ L
N+2 个待测 RNA 样本	各 6 μ L	不加	不加
超纯水	不加	6 μ L	不加
脊髓灰质炎病毒 Sabin 株 qRT-PCR 阳性对照	不加	不加	6 μ L

5. 盖上盖子后上机, 按下面参数进行 qRT-PCR:

过程	温度	时间
逆转录	50°C	10 min.
预变性	95°C	10 min.
PCR 反应	95°C	15 sec.
(40 个循环)	60°C	60 sec (采集 Cy5、FAM 和 ROX 通道的荧光信号,

			淬灭基团为 NFQ)
	三、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 DNA, 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。		