

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:13-87810  
低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

人类嗜 T 淋巴细胞病毒 RT-PCR 试剂盒

HTLV-1 RT-PCR Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

| <p><b>产品及特点</b></p>  | <p>人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 (Human T-lymphotropic Virus 1, HTLV-1) 是一种感染后可导致血癌或其他转移癌的 RNA 病毒, 在体内主要感染 CD4+ T 淋巴细胞, 可引起成人 T 淋巴细胞白血病/淋巴瘤、HTLV- I 相关脊髓病 (HTLV- I associated myelopathy, HAM/ 热带痉挛性下肢瘫, tropical spastic paraparesis TSP) 及色素层炎 (uveitis), 主要通过输血、针头、性行为、母子传染。HTLV-I 病毒是爱滋病毒 (HTLV-I) 的远亲, 但 HTLV-I 和爱滋病的发生没有任何关联。目前各捐血中心以酵素免疫法全面筛检 HTLV-I 病毒。本产品就是针对此需求而建立的一种检测 HTLV- 1 病毒 RNA 的 RT-PCR 检测方法, 本试剂盒具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 即开即用, 用户不需要单独准备各种成分。</li> <li>2. 根据 HTLV-1 保守序列设计, 专一性强。</li> <li>3. 使用两步式 RT-PCR, 先做 RT 再做 PCR, 操作更加灵活。</li> <li>4. 提供无传染性的 DNA 片段作为阳性对照, 便于分析实验结果。</li> <li>5. 本试剂盒足够 50 次 20 <math>\mu</math>L 体系的 RT 反应和 50 次 40 <math>\mu</math>L 体系的常规 PCR 反应。</li> <li>6. 本产品只用于科研, 不能用于临床诊断。</li> </ol>   |                  |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
|--|--|------------------|--|----|----|-------|-------------|--------|-----------------|--------------------|--------|------------------|------------------------|-------|-----------|-----|--------|------------|---------------------|----------|------------------|--|------------|-----------------|------------------|-------|------------|------|------------|-----|
| <p><b>规格及成分</b></p>  | <table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>十孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MMLV (含 RI)</td> <td>60906a</td> <td>50<math>\mu</math>L (黄盖)</td> </tr> <tr> <td>RT Buffer (含 dNTP)</td> <td>60906b</td> <td>250<math>\mu</math>L (白盖)</td> </tr> <tr> <td>PCR MagicMix 3.0 (含染料)</td> <td>90805</td> <td>1 mL (红盖)</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>100935</td> <td>1 mL (本色盖)</td> </tr> <tr> <td>HTLV-1 RT-PCR 引物混合液</td> <td>13-87810</td> <td>100<math>\mu</math>L (白盖)</td> </tr> <tr> <td>人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照 (1<math>\times</math>10E8 拷贝/<math>\mu</math>L)</td> <td>13-87810pc</td> <td>50<math>\mu</math>L (黄盖)</td> </tr> <tr> <td>一管式病毒 RNAout 试用装</td> <td>3073a</td> <td>9mL (30 次)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-87810sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> |                  |  | 成分 | 编号 | 十孔盒包装 | MMLV (含 RI) | 60906a | 50 $\mu$ L (黄盖) | RT Buffer (含 dNTP) | 60906b | 250 $\mu$ L (白盖) | PCR MagicMix 3.0 (含染料) | 90805 | 1 mL (红盖) | 超纯水 | 100935 | 1 mL (本色盖) | HTLV-1 RT-PCR 引物混合液 | 13-87810 | 100 $\mu$ L (白盖) | 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 拷贝/ $\mu$ L) | 13-87810pc | 50 $\mu$ L (黄盖) | 一管式病毒 RNAout 试用装 | 3073a | 9mL (30 次) | 使用手册 | 13-87810sc | 1 份 |
| 成分   | 编号   | 十孔盒包装            |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| MMLV (含 RI)  | 60906a   | 50 $\mu$ L (黄盖)  |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| RT Buffer (含 dNTP)   | 60906b   | 250 $\mu$ L (白盖) |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| PCR MagicMix 3.0 (含染料)                                     | 90805  | 1 mL (红盖)        |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| 超纯水  | 100935   | 1 mL (本色盖)       |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| HTLV-1 RT-PCR 引物混合液  | 13-87810   | 100 $\mu$ L (白盖) |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| 人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 拷贝/ $\mu$ L) | 13-87810pc   | 50 $\mu$ L (黄盖)  |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| 一管式病毒 RNAout 试用装   | 3073a  | 9mL (30 次)       |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| 使用手册   | 13-87810sc   | 1 份              |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| <p><b>运输及保存</b></p>  | <p>低温运输, -20<math>^{\circ}</math>C 保存, 保存期限一年。阳性对照最好跟其他试剂分开放置, 以避免污染,</p>  |                  |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| <p><b>自备试剂</b></p>   | <p>一管式病毒 RNAout 或柱式病毒 RNAout</p>   |                  |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |
| <p><b>使用方法</b></p>   | <p><b>一、样品 RNA 的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 如果有 N 个样品, 必须设置 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 HTLV-1 RT-PCR 阳性</li> </ol>  |                  |  |    |    |       |             |        |                 |                    |        |                  |                        |       |           |     |        |            |                     |          |                  |  |            |                 |                  |       |            |      |            |     |

对照的 10000 倍稀释的（稀释后浓度为  $1 \times 10^4$  拷贝/ $\mu\text{L}$ ， $10\mu\text{L}$  相当于 1 万拷贝，可以将  $10\mu\text{L}$  原液加入到  $990\mu\text{L}$  自备 TE 溶液中，充分混匀，此为 100 倍稀释液。再取  $10\mu\text{L}$  此稀释液加入到  $990\mu\text{L}$  自备 TE 溶液中，充分混匀，此为 10000 倍稀释液，直接作为第三步的 PCR 阳性对照）再加上一定量的水作为制备的阳性对照（加水后其总体积跟样品一样，样品体积多少取决于所用试剂盒的要求）。可以用水作为制备的阴性对照。制备所得成为样品 RNA。

- 用自选方法纯化 N+2 个样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数病毒 RNA 提取试剂盒兼容。本试剂盒免费赠送 15 次 RNA 病毒裂解液试用装（一管式病毒 RNAout 的成分），其使用手册可以从本公司网站 [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com)，通过搜索产品名称一管式病毒 RNAout 或产品编号 3073 下载用自选方法纯化样品的 RNA，也可以另购本公司的一管式病毒 RNAout 或柱式病毒 RNAout，上述两款产品跟本试剂盒兼容。

## 二、RT（逆转录）反应合成 cDNA

- 对 N+2 个提取的 RNA 样品，最好设置 N+3 个反应，多出的一个作为 RT 阴性对照。按照下表设置 RT 反应体系（ $20\mu\text{L}$  体系）：

| 成份                  | N+2 个样品管            | RT 阴性对照管            |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| 样品 RNA（来于样品制备）      | 各 $1-10\mu\text{L}$ | $1-10\mu\text{L}$   |
| HTLV-1 RT-PCR 引物混合液 | 各 $2\mu\text{L}$    | $2\mu\text{L}$      |
| 超纯水                 | 补水到 $14\mu\text{L}$ | 补水到 $14\mu\text{L}$ |
| RT Buffer(含 dNTP)   | 各 $5\mu\text{L}$    | $5\mu\text{L}$      |
| MMLV（含 RI）          | 各 $1\mu\text{L}$    | $1\mu\text{L}$      |
| 总体积                 | $20\mu\text{L}$     | $20\mu\text{L}$     |

- $42^\circ\text{C}$  保温 60 min， $70^\circ\text{C}$  保温 10 min 以终止反应，然后放置在冰上待用。此为合成的 cDNA 样品。

## 三、PCR 反应（ $40\mu\text{L}$ 体系，在样品制备室进行）

- 对 N+3 个 cDNA 样品，最好设置 N+5 个 PCR 反应，多出的一个是 PCR 阳性对照，一个是 PCR 阴性对照，便于在出问题时的分析原因。在 N+5 个 PCR 管中按下表分别加入下列成分：

| 成分               | N+3 个样品管        | PCR 阴性对照        | PCR 阳性对照        |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| PCR MagicMix 3.0 | $20\mu\text{L}$ | $20\mu\text{L}$ | $20\mu\text{L}$ |

|                                 |          |       |       |
|---------------------------------|----------|-------|-------|
| HTLV-1 RT-PCR 引物混合物             | 1 μL     | 1 μL  | 1 μL  |
| N+3 个 cDNA 样品                   | 各 1-5 μL | 不加    | 不加    |
| PCR 阳性对照 (试剂盒提供的原液的 10000 倍稀释液) | 不加       | 不加    | 1 μL  |
| 补水到                             | 40 μL    | 40 μL | 40 μL |

6. 上机进行 PCR, PCR 反应参数为:

| 过程                 | 温度  | 时间    |
|--------------------|-----|-------|
| 预变性                | 94℃ | 3 分钟  |
| PCR 反应<br>(35 个循环) | 94℃ | 15 s  |
|                    | 53℃ | 30 s  |
|                    | 72℃ | 30 s  |
| 延伸                 | 72℃ | 10 分钟 |

7. 电泳检测 PCR 产物。PCR 结束后不加上样液直接上样进行琼脂糖凝胶电泳。  
阳性样品预期的 PCR 产物长度为 119 bp。

**关联产品**

人类嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型可视化 LAMP 试剂盒