



# 人乳头瘤病毒 16 型探针法荧光定量 PCR 试剂盒

Human Papillomavirus 16 Probe qPCR Kit

仅

供

科

研

使

用

产品及特点

人乳头瘤病毒(Human Papillomavirus, HPV)是一种属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒 A 属，属于 DNA 病毒，能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖，表现为寻常疣、生殖器疣（尖锐湿疣）等症状。随着性病中尖锐湿疣的发病率急速上升和宫颈癌、肛门癌等的增多，人乳头瘤病毒感染越来越引起人们的关注。人乳头瘤病毒有很 130 多种型，其中人乳头瘤病毒 16 型（HPV-16）属于高危型，因此快速准确鉴定 HPV-16 对该上述疾病的预防和检疫有着重要作用，本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测 HPV-16 的试剂盒，**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，分析灵敏性高，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 HPV-16 型 DNA 高度保守区设计，不会跟其他病毒的 DNA 发生交叉反应。
5. 既可用于定性检测，又可用于定量检测。用于定量检测时线性范围至少为 5 个数量级。
6. 本产品足够 50 次 20μL 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

| 成分                                                                       | 规格    | 包装        |
|--------------------------------------------------------------------------|-------|-----------|
| 2×Probe qPCR MasterMix                                                   | 500μL | 0.5mL 本色管 |
| 荧光 PCR 模板专用稀释                                                            | 1mL   | 1.5mL 红盖管 |
| 超纯水                                                                      | 1mL   | 1.5mL 紫盖管 |
| HPV-16 qPCR 引物-探针混合液干粉                                                   | 50 次  | 0.5mL 棕色管 |
| HPV-16 qPCR 阳性对照(1×10E7 拷贝/μL)                                           | 50μL  | 0.5mL 黄盖管 |
| 使用手册                                                                     | 1 份   | 无         |
| 本产品采用五孔盒包装                                                               |       |           |
| <b>注 意：</b> 引物-探针干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 165μL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。 |       |           |

**一、稀释标准曲线样品** (以 1E1-1E6 拷贝/μL 这 6 个 10 倍稀释度为例)。由于标准品浓度非常高，

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <div>使用方法</div> | <p>因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行，千万不能污染样品或本试剂盒的其他成分)。为增加产品稳定性和避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供无传染性的 DNA 片段作为阳性对照。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 标记 6 个离心管，分别为 6, 5, 4, 3, 2, 1。</li><li>2. 用带芯枪头分别加入 45μL 荧光 PCR 专用模板稀释液，用带芯枪头，下同。</li><li>3. 在 6 号管中加入 5μL1×10E7 拷贝/μL 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E6 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</li><li>4. 换枪头，在 5 号管中加入 5μL1×10E6 拷贝/μL 的阳性对照(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E5 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</li><li>5. 换枪头，在 4 号管中加入 5μL1×10E5 拷贝/μL 的阳性对照(上步所得)，充分震荡 1 分钟，得 1×10E4 拷贝/μL 的标准曲线样品。放冰上待用。</li><li>6. 重复上面的操作直到得到 6 个稀释度的标准曲线样品。放冰上待用。</li></ol> <p><b>二、样品 DNA 的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>7. 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)，一个是 NC (样品制备阴性对照)。可以用 10μL 上步所得 4 号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次制备要求的体积一样，以此作为 PC。</li><li>8. 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。</li></ol> <p><b>三、Probe qPCR 反应 (20μL 体系，在样品制备室进行)</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>9. 如果做定量分析并且只做 1 次重复,则标记 N+9 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)，6 个用于标准曲线。如果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 (直接用第 6 步第 4 号管的阳性对照稀释液做模板)。</li></ol> |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

下面只以定量分析为例描述操作步骤。

**10.** 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<br>N+2 个 | PCR<br>阴性对照 | 标准曲线样品管<br>(1-6 管) |
|-------------------------|--------------|-------------|--------------------|
| 2×Probe qPCR MasterMix  | 各 10μL       | 10μL        | 各 10μL             |
| HPV-16 qPCR 引物-探针混合液    | 3μL          | 3μL         | 各 3μL              |
| N+2 个待测 DNA 样本          | 各 7μL        | 不加          | 不加                 |
| 超纯水                     | 不加           | 7μL         | 不加                 |
| 第 6 步所得标准曲线样品稀释液（1-6 号） | 不加           | 不加          | 各 7μL              |

**11.** 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℃ | 5min                        |
| PCR 反应<br>(45 个循环) | 95℃ | 15sec                       |
|                    | 60℃ | 1min（采集 FAM 通道，淬灭基团为 TAMRA） |

**四、数据处理**

**12.** 如果把本试剂盒用于定量检测，则以阳性对照浓度的 log 值为横轴，以 Ct 值为纵轴，绘制标准曲线。再以待测样品的 Ct 值从标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值，再推算出其浓度。

**13.** 如果把本试剂盒用于定性检测，只判断阳性或阴性，则阴性对照必须无 Ct 或 Ct 大于或等于 40。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 40，否则实验无效。如果实验有效，则分析待测样品，如果无 Ct 或 Ct 大于或等于 40，则为阴性。如果 Ct 小于 40 则为阳性。

PCR 编号

JN-E1265

|       |                       |
|-------|-----------------------|
| 说明书   | 1 份                   |
| 自备试剂  | 样品 DNA, 核酸纯化试剂盒       |
| 运输及保存 | 低温运输, -20℃保存, 有效期 2 年 |

**生产企业: 上海纪宁实业有限公司**

**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: 021-54721350**

**技术支持: 15800441226**

