



乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 试剂盒

产品及特点:

乙型肝炎病毒 (HBV) 共价闭合环状 DNA (covalently closed circularDNA, cccDNA) 是乙肝病毒前基因组 RNA 复制的原始模板, 虽含量较少, 每个肝细胞内只有约 5-50 个拷贝, 但对乙肝病毒的复制以及感染状态的建立具有十分重要的意义, 只有清除了 cccDNA, 才能彻底消除乙肝患者病毒携带状态。因此 cccDNA 的检测具有重要的临床意义。

本产品是基于常规 PCR 技术的乙肝病毒 cccDNA 快速检测试剂盒。它具有下列特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供 DNA 模板。
2. 引物经过精心优化, 专一性强, 只扩增乙型肝炎病毒 cccDNA, 与其他病原没有交叉反应。
3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。
4. PCR mix 中含上样染料, PCR 后可以直接上样电泳。
5. 本试剂盒足够做 40 μ L 体系的 PCR 50 次, 但只能用于科研。

规格及成分:

编号	成分	规格
试剂一	PCR MagicMix 3.0	1 mL (红盖)
试剂二	超纯水	1 mL (亮黄色)
试剂三	乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂四	乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 阳性对照 (1 \times 10E8 / μ L)	50 μ L (黄盖)
试剂五	使用手册	1 份



运输及保存:

低温运输, -20°C 保存, 保存期限为一年。阳性对照需要单独放置, 不要污染其他试剂。

自备试剂:

样品 DNA。

使用方法:

一、样品 DNA 的制备:

1. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数核酸提取试剂盒兼容。

可以选用本公司柱式病毒 DNAout。

2. 如果有 N 个样品, 则需要做 N+2 个提取, 包括一个样品制备阳性对照和一个样品制备阴性对照。样品制备阳性对照是在适量水 (取决于试剂盒要求的样品起始量) 中加 10 μL 乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液而得, 样品制备阴性对照是直接用水。提取结束后最后得到模板 DNA 放冰上待用。

二、设置 PCR 反应 (40 μL 体系) :

3. 对 N+2 个样品, 在 PCR 时需要增加一个 PCR 阳性对照和一个 PCR 阴性对照, 故需要设置 N+4 个反应。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分:

成份	N+2 个样品管	PCR 阴性对照	PCR 阳性对照
PCR Magic Mix 3.0	各 20 μL	20 μL	20 μL
乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 引物混合液	各 2 μL	2 μL	2 μL
N+2 个样品 DNA 模板	各 18 μL	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18 μL	--
PCR 阳性对照 (乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18 μL

4. 按下表设置 PCR 反应:



过程	温度	时间
预变性	95°C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95°C	30 sec
	55°C	30 sec
	72°C	40 sec
最后延伸	72°C	7 min

三、电泳检测：

5. 取 10-20 μ L PCR 产物。电泳检测 PCR 产物。本产品提供的 PCR Mix 在扩增结束后可以直接上样，不需要另外再加 loading buffer。PCR 产物阳性对照必须有 551bp 大小的条带出现，阴性对照必须无任何扩增，否则实验无效。对没有扩增产物的样品，可以稀释 10 倍后重复 PCR 扩增以排除 PCR 抑制剂的感染。

上海纪宁实业有限公司(www.shjning.com)所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。