



# 乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 试剂盒

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

官方 Q Q: 2881498548

官方网址: [www.tw-reagent.com](http://www.tw-reagent.com)

监督电话: 021-54845833

## 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 $\mu$ 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 $\mu$ L (白盖)
试剂四	乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L)	50 $\mu$ L (黄盖)
试剂五	使用手册	1 份

## 运输及保存:



低温运输，-20℃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 10μL 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(40μL 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 20μL	20μL	20μL
乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 引物混合液	各 2μL	2μL	2μL
N+2 个样品 DNA 模板	各 18μL	--	--
PCR 阴性对照 (水)	--	18μL	--
PCR 阳性对照 (乙型肝炎病毒 cccDNA PCR 阳性对照 1000 倍稀释液)	--	--	18μL

4. 按下表设置 PCR 反应：

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

### 三、电泳检测：



5. 取 10-20  $\mu\text{L}$  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。

#### **四、特别提示：**

**本公司的所有产品，仅可用于科研实验，严禁用于临床医疗及其他非科研用途！**