

旋达[®]R1 致病微生物检测系列

MS2 过程控制试剂盒（PCR-荧光探针法）

请于-20℃条件下保存，有效期 15 个月

◆ 产品说明

旋达[®]R1 MS2 过程控制试剂盒（PCR-荧光探针法）针对 MS2 噬菌体设计特异性引物和探针，用于病毒检测的过程控制。

◆ 产品组成（48 测试）

012182M	
试剂	含量
A-MS2-P	1000μL × 1 支
B-MS2-P	500μL × 1 支
NG-P	100μL × 2 支

◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene9600 等实时荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①冰盒；②移液器（1-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头（RNase free）；③离心机；④涡旋混匀器；⑤金属浴。

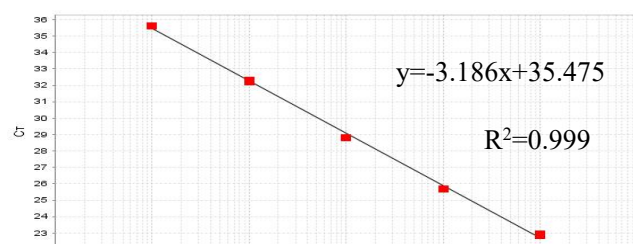
◆ 注意事项

1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染，实验要分区操作。
 - 1) 第一区：试剂准备区。
 - 2) 第二区：样本制备区。
 - 3) 第三区：扩增及产物分析区。

★ 分区之间最好进行物理性隔离，避免人为因素造成的污染。
2. 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套，不同区域独立使用工具，需更换手套和实验服。
3. 严格按照操作步骤操作，试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
4. 反应液中的成分对光敏感，应**避光保存**。试剂使用前要完全解冻，但应避免反复冻融，推荐使用前离心 30 秒，并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
5. 反应结束后，扩增管请置于密封袋内丢弃，当日清理，开盖易造成气溶胶污染，禁止开盖。
6. 不同批号试剂请勿混合使用，在有效期内使用。

◆ 试剂盒组分及样品处理说明

- (1) 进行样品 RNA 提取时请参照国标法加入 10 μL B-MS2-P 作为提取过程控制；亦可参照国标法另取 50-100 μL B-MS2-P，用 PBS 缓冲液补足至 200 μL，进行核酸提取、标准曲线制作及计算提取效率。
- (2) A-MS2-P 为 MS2 反应液，含有 MS2 扩增反应液。
- (3) B-MS2-P 为过程控制液，含有 MS2 噬菌体。
- (4) NG-P 为阴性对照，也可参照国标法提取阴性样品核酸作为阴性对照进行实验。
- (5) 标准曲线绘制：以未稀释和梯度稀释过程控制的浓度 lg 值为 X 轴，以其 Ct 值为 Y 轴，建立过程控制标准曲线，标准曲线 R² 应≥0.98。（参考下图）



*推荐使用双螺旋生物公司的病毒基因组 DNA/RNA 提取试剂盒中的方案进行病毒 DNA/RNA 的提取，或者采用其他等效产品进行 RNA 提取。

◆实验操作（推荐）

将试剂完全解冻，各组分离心 30s。

1. 反应体系配制（试剂准备区，放置于冰盒中进行）

涡旋混匀，离心 30s，每管分装 20 μ L 于 0.1mL 或 0.2mL PCR 管中。

2. 添加模板（样本制备区，放置于冰盒中进行）

在步骤 1 中已含有反应液的 PCR 管中分别加入 5 μ L 模板，模板顺序按照下表进行编号，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行 PCR 扩增反应。

孔编号	实验意义	反应液	加入模板
A	空白对照	A-MS2-P	5 μ L RNase free water
B	阴性对照	A-MS2-P	5 μ L 阴性对照
C	病毒提取过程控制 1	A-MS2-P	5 μ L 样品 RNA
D	病毒提取过程控制 2	A-MS2-P	5 μ L 过程控制病毒 RNA
E	病毒提取过程控制 3	A-MS2-P	5 μ L 10 ⁻¹ 倍稀释过程控制病毒 RNA
F	病毒提取过程控制 4	A-MS2-P	5 μ L 10 ⁻² 倍稀释过程控制病毒 RNA
G	病毒提取过程控制 5	A-MS2-P	5 μ L 10 ⁻³ 倍稀释过程控制病毒 RNA

配制完成后请盖上 PCR 管盖，涡旋混匀并离心后上机反应。

3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪进行检测，使用 FAM 通道；按下列条件设置扩增反应：

PCR 循环			荧光收集位点
50°C	10 分钟	1 个循环	—
95°C	1 分钟	1 个循环	—
95°C	15 秒	45 个循环	—
60°C	45 秒		※

4. 基线和阈值设定

基线调整取 3-15 个循环的荧光信号，阈值线应超过阴性对照扩增曲线的最高点。

◆结果判定

(1) 标准曲线检测没有典型的扩增曲线或者阴性对照、空白对照有扩增曲线，应重新检测；

(2) 提取的 RNA 样品没有 MS2 扩增曲线，应重新检测；

(3) 标准曲线 R²<0.98，应重新检测。

◆企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司 网址：www.dhelix.cn

电话：020-85671013 传真：020-34037175

地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元