

旋达[®]R1动物疫病检测系列

罗湖病毒 (TiLV) ^{RNA} 核酸检测试剂盒 (恒温荧光法)

请于-20℃条件下保存, 有效期 12 个月

◆ 产品说明

旋达[®]R1动物疫病检测系列基于独特的恒温荧光检测技术, 可针对食品、动物组织等样品中病毒的特异核酸片段进行扩增, 通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于对罗湖病毒 (TiLV) 的检测, **检出限为 10³copies/μl 基因组 RNA。**

◆ 产品组成 (48 测试)

032191MIII	
试剂	含量
A-TiLV-I	22μL × 48 管
B-I	90 μL × 1 支
R-I	20 μL × 1 支
PG-TiLV-I	50 μL × 1 支

◆ 适用仪器

Dhelix-Q5、ESE Tube Scanner、Genie II、Deaou-308C 等恒温荧光检测仪, Gentier 32R、Gentier 48E/48R、CFX 96等荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管; ②冰盒; ③移液器 (0.1-2.5μL, 0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL) 及配套灭菌吸头; ④离心机; ⑤涡旋混匀器; ⑥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: 样本制备区。
 - 2) 第二区: 模板添加区。
 - 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。
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。

◆ 样品处理

①样品的采集和制备是罗湖病毒检测的重要步骤, 为防止交叉污染, 应使用一次性消耗品, 研钵应经 160℃干烤 2 h, 其他不宜干烤或高压处理的器皿应使用 1%次氯酸钠溶液浸泡。②取样应尽量采取罗非鱼鳃、脾脏、肾脏、肝脏及脑组织等部位, 对于同一批样品, 应多点采集合并后, 作为一份样品进行均质, 提取 DNA。③采样过程应快速完成, 将采取的样品放入无菌均质袋中均质成糜状, 充分混匀。

◆ 实验操作

1. 模板制备 (样本制备区)

建议使用水生动物病原体基因组DNA/RNA提取试剂盒（FAST）等商品化试剂盒，具体过程详见产品说明书。

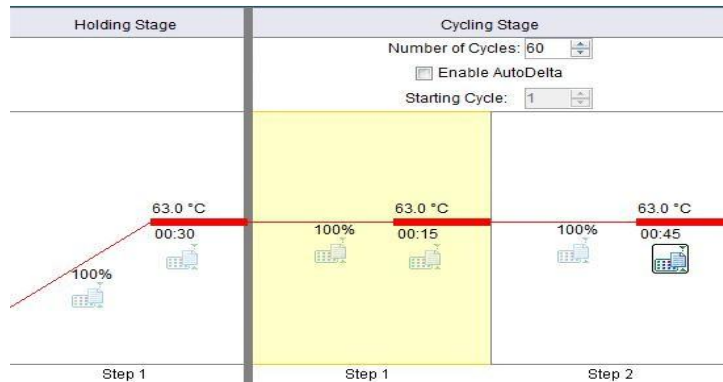
2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

取出所需测试数的已含有反应液 A- TiLV -I 的 PCR 管，将试剂完全解冻，离心 30 秒，在管盖上标记管名（阴性对照管 NG、样品 XX、阳性对照管 PG）。打开管盖向各管管底分别加入 0.8μL B-I 及 0.2μL R-I，盖上阴性对照管管盖，其他各管分别沿管壁加入 2μL 模板，顺序为待测样品模板、PG-TiLV-I，依次盖好各管管盖，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行扩增反应。

3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

①恒温仪器 63℃条件下反应 60 min。待仪器升温至 63℃后，新建程序，设置实验名称及反应时间，将步骤 2 中离心后的 PCR 反应管放入恒温荧光分子检测仪，点击开始检测。

②若使用荧光定量 PCR 仪，则荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 None，将 63℃ 15 s，63℃ 45 s 作为一个循环，于 63℃ 45 s 处收集荧光信号，60 个循环。



其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

◆ 结果判定

①仪器自动判定结果，若显示“阳性”或“+”，则样品中含有罗湖病毒（TiLV）；若显示“阴性”或“-”，且没有出现 S 型扩增曲线，则样品中不含有对罗湖病毒（TiLV）或含量低于检出限。

②在荧光定量PCR 仪上，根据有无“S”型扩增曲线判定结果。若有“S”型扩增曲线，则样品中含有罗湖病毒（TiLV）；若无“S”型扩增曲线，则样品中不含有罗湖病毒（TiLV）或含量低于检测限。

★ NG 反应管结果显示“阴性”，PG 反应管结果显示“阳性”，此次检测结果有效，否则无效。如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。

◆ 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