

旋达®R1 动物病害检测系列

哈维弧菌/副溶血性弧菌双重核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

请于-20°C条件下保存，有效期15个月

◆ 产品说明

旋达®R1 动物病害检测系列可针对食品、动物组织等样品中病原的特异核酸片段进行扩增，通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于哈维弧菌/副溶血性弧菌的检测，**检出限为 10¹copies/μL 基因组 DNA**。

◆ 产品组成（48 测试）

031212M	
试剂	含量
A-VH/VP-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-VH/VP-P	100μL × 1 支

◆ 适用仪器

Gentier 32R、Gentier 48E/48R、Gentier mini、CFX 96等实时荧光PCR仪。

◆ 自备耗材和仪器

①冰盒；②移液器（0.5-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头；③离心机；④涡旋混匀器；⑤金属浴；⑥均质机、搅拌机或研钵等研磨器具；⑦电子天平。

◆ 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

参照相关标准处理样品，制备的样本保存待用。

◆ 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，放置于冰盒上进行）

剪下所需测试数的已含有反应液的 PCR 管，放置在室温待解冻后，离心 30 秒后打开管盖，向每管反应液中分别加入 5μL 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-VH/VP-P。盖好配套的 PCR 管盖后，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行 PCR 扩增反应。
3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪，哈维弧菌荧光基团选择 VIC，淬灭基团选择 NONE；副溶血性弧菌荧光基团选择

FAM, 淬灭基团选择 NONE, 按下列条件设置扩增反应:

	PCR 循环			荧光收集位点
去污染	50°C	5 分钟	1 个循环	—
预变性	95°C	5 分钟	1 个循环	—
扩增	95°C	15 秒	45 个循环	—
	60°C	30 秒		※

其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

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

检测样品 Ct 值 \geq 45 或无 Ct 值, 无“S”型扩增曲线, 可判定样品不含有哈维弧菌 (VH) 和副溶血性弧菌 (VP), 或含量低于检出限;

FAM 通道样品 Ct \leq 40, 曲线呈“S”型扩增曲线, 可判定样品含有副溶血性弧菌 (VP);

VIC 通道样品 Ct \leq 40, 曲线呈“S”型扩增曲线, 可判定样品含有哈维弧菌 (VH);

测试样品检测 Ct 值在 40~45 之间, 应调整模板浓度, 重做实时荧光 PCR。再次扩增后的样品检测 Ct 值 $<$ 45, 则可判定样品含有 VH/VP; 再次扩增后的样品检测 Ct 值 \geq 45, 则可判定该样品不含有 VH/VP 或含量低于检出限。

◆ 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