

旋达[®]R1动物病害检测系列

二尖梅奇酵母菌核酸检测试剂盒（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。本产品用于二尖梅奇酵母菌的检测，**检出限为 10¹ copies/μL 基因组 DNA。**

◆ 产品组成（48 测试）

033212M	
试剂	含量
A-MB-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-MB-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

- 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染，实验要分区操作。
 - 第一区：样本制备区。
 - 第二区：模板添加区。
 - 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。
- 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。
- 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。
- 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，但避免反复冻融，推荐使用前离心30秒。
- 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。
- 不同批号试剂请勿混合使用，在有效期内使用。

◆ 样品处理

样品类型：活体或冷冻中华绒螯蟹幼体、仔蟹个体样品约5 mg~100 mg；活体或冰冻蟹肝胰腺、肌肉、鳃、心脏或血淋巴样品5 mg~100 mg。活体或冷冻饵料生物样品约5 mg~100 mg。将采集的样品放入无菌均质袋中均质成糜状，加入2~3倍体积生理盐水，充分混匀。

参照相关标准进行样品前处理。

◆ 实验操作

- 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。
- 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-MB-P。盖好管盖后，涡旋混匀30秒，离心1min，立即进行PCR扩增反应。
- 扩增反应（扩增及产物分析区）
使用荧光定量PCR仪，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。

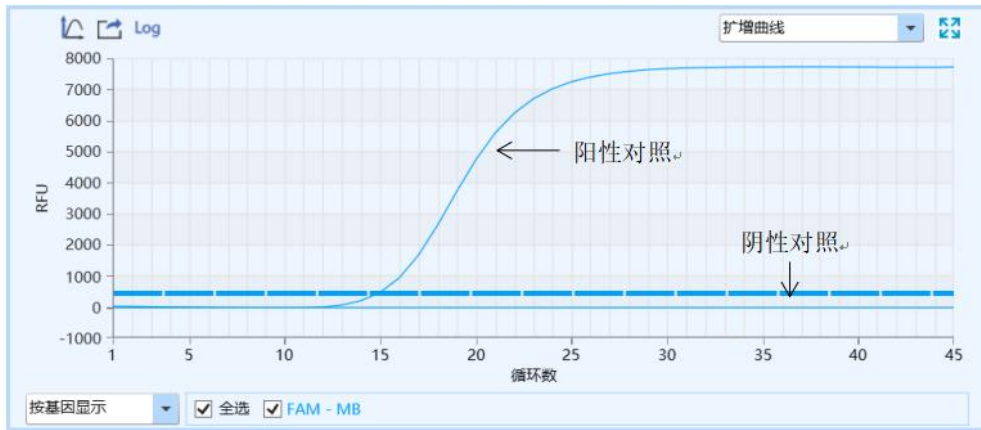
◆ 结果判定

测试样品检测 Ct 值 ≥ 45 或无 Ct 值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含有二尖梅奇酵母菌或含量低于检出限；

测试样品检测 Ct 值 ≤ 40 ，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含有二尖梅奇酵母菌；

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 ，则可判定样品含有二尖梅奇酵母菌；再次扩增后的样品检测 Ct 值 ≥ 45 ，则可判定该样品不含有二尖梅奇酵母菌或含量低于检出限。

★ NG 反应为平滑直线，PG 反应为“S”型扩增曲线，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。



参考结果图

◆ 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