

旋达[®]R1 动物病害检测系列

黄颡鱼杯状病毒 RNA 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动物组织、饲料、粪便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。本产品用于黄颡鱼杯状病毒的检测, **检出限为 10¹copies/μL 基因组 RNA**。

◆ 产品组成 (48 测试)

| 032202M | |
|-----------|------------------|
| 试剂 | 含量 |
| A-YCCV-P | 20μL × 8 管 × 6 排 |
| NG-P | 100μL × 2 支 |
| PG-YCCV-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

冰盒; 移液器 (0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL) 及配套灭菌吸头; 离心机; 涡旋混匀器; 金属浴; 均质机、搅拌机或研钵等研磨器具; 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

请参照相关标准进行样品前处理。

◆ 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-YCCV-P。盖好配套的 PCR 管盖后, 涡旋混匀 30 秒, 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, YCCV 荧光基团选择 FAM。

按下列条件设置扩增反应:

| | PCR 循环 | | | 荧光收集位点 |
|-----|--------|------|--------|--------|
| | 逆转录 | 50℃ | 5 分钟 | 1 个循环 |
| 预变性 | 95℃ | 5 分钟 | 1 个循环 | — |
| 扩增 | 95℃ | 15 秒 | 45 个循环 | — |
| | 60℃ | 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

进行软件设置时，为目标基因设置特定的荧光通道。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、质量结果判定

1) 阴性对照：FAM 荧光通道 $C_t > 45$ ，无“S”型无扩增曲线

2) 阳性对照：FAM 荧光通道 $C_t \leq 30$ ，曲线呈“S”型扩增曲线

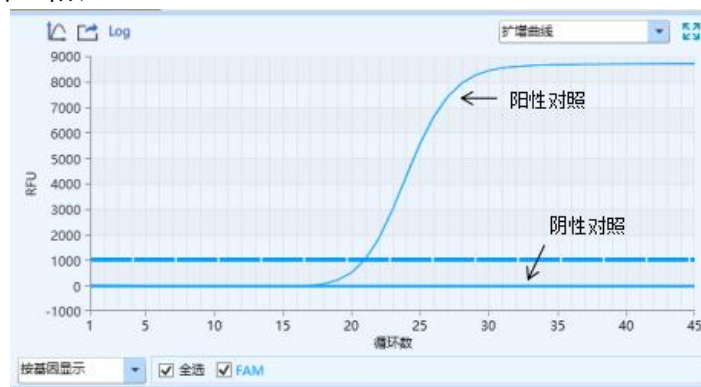
上述两项若有一项不符合，应重新进行扩增；如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。

2、检测结果判定

测试样品检测 C_t 值 ≥ 45 或无 C_t 值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含黄颡鱼杯状病毒或含量低于检出限；

测试样品检测 C_t 值 < 40 ，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含黄颡鱼杯状病毒；

测试样品检测 C_t 值 $40 < C_t < 45$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，判断样品可疑，建议复检；复检后，在阴阳性对照都正常的前提下，测试样品检测 C_t 值 < 45 ，可判定样品含黄颡鱼杯状病毒；测试样品检测 C_t 值 ≥ 45 ，可判定样品不含黄颡鱼杯状病毒或含量低于检出限。



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