

## 旋达®R1动物病害检测系列

对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒(IHHNV)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。本产品用于对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒(IHHNV)的检测, 检出限为  $10^1$  copies/ $\mu$ L 基因组 DNA。

## ◆ 产品组成 (48 测试)

031032M	
试剂	含量
A-IHHNV-P	20 $\mu$ L × 8 管 × 6 排
NG-P	100 $\mu$ L × 2 支
PG-IHHNV-P	100 $\mu$ L × 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 (0.5-10 $\mu$ L, 10-100 $\mu$ L, 100-1000 $\mu$ L) 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《GB/T 25878-2010 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)检测 PCR 法》或其他标准处理样品, 制备的样本保存待用。

详细步骤请按照标准操作。

## ◆ 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 5 $\mu$ L 模板, 顺序为 NG、待测样品模板、PG-IHHNV-P。盖好管盖后, 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，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。

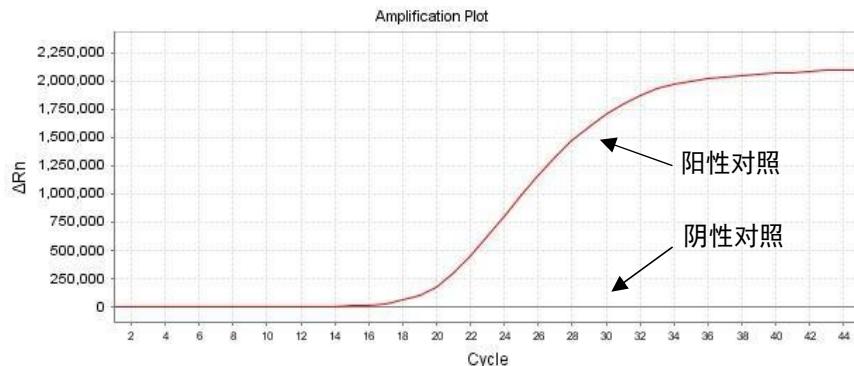
## ◆ 结果判定

测试样品检测  $C_t$  值  $\geq 45$  或无  $C_t$  值，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含有对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒(IHHNV)或含量低于检出限；

测试样品检测  $C_t$  值  $\leq 40$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含有对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒(IHHNV)；

测试样品检测  $C_t$  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  $C_t$  值  $< 45$ ，则可判定样品含有对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒(IHHNV)；再次扩增后的样品检测  $C_t$  值  $\geq 45$ ，则可判定该样品不含有对虾传染性皮下及造血组织坏死症病毒(IHHNV)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。



## ◆ 企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司

网址: [www.dhelix.cn](http://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