

罗湖病毒 (TiLV) 核酸检测试剂盒 (RT-PCR 荧光探针法)

使用说明书

(使用前请仔细阅读本说明书)

【产品名称】

通用名称: 罗湖病毒 (TiLV) 核酸检测试剂盒 (RT-PCR 荧光探针法)

英文名称: RT-PCR Detection Kit for Tilapia Lake Virus (Fluorescent Probe Assay)

【包装规格】48 测试/盒

【产品编号】FZ005AR2

【产品简介】

本试剂盒适用于水产样本中罗湖病毒 (TiLV) 的检测。

【检测原理】

基于实时荧光 RT-PCR 技术, 针对 TiLV 第八基因节段设计引物和荧光探针并优化反应所需试剂组分, 加入待检样品核酸即可进行扩增反应。在扩增过程中, 荧光探针与目的基因片段结合, 可被 Taq 酶分解并产生荧光信号, 此时荧光定量 PCR 仪可识别该荧光信号, 同时根据其强弱变化绘制出相应的实时扩增曲线, 进而判定 TiLV 是否检出。

【产品组分】

组分名称	规格×数量
裂解液	1 mL×2 管
阳性对照	200 μL×1 管
阴性对照	200 μL×1 管
预混液	1 mL×1 管
说明书	1 份

【储存条件与保质期】

-20°C 储存, 有效期为 9 个月, 避免反复冻融。

【灵敏度】

最低检验限: 10-100 Copies/Test

【所需其他材料和适用仪器】

荧光定量 PCR 仪 (具有能够检测 FAM 标记的荧光通道)、高速离心机、移液器、移液枪头及离心管等。

【使用指南】

1. 样品前处理

取适量 (如 50~100 mg) 待检新鲜样品

组织研磨, 并加入 1~5 倍体积的生理盐水进行匀浆, 取 200 μL 匀浆液, 经商品化病毒 RNA 提取试剂盒提取获得相应的 RNA 待检样品, 可于 -20°C 条件下暂存、待用。

2. 加样、反应

从试剂盒中取出预混液, 充分融化, 涡旋后短暂离心, 分别进行如下操作。

- 按照需求取 n 个 PCR 反应管 (n=1 管阴性对照+待检样品数+1 管阳性对照), 以上每管中分别加入 20 μL 预混液, 待用。
- 向上述 n 个反应管中分别加入阴性对照、DNA 待检样品、阳性对照各 5 μL, 盖紧管盖, 短暂离心, 立即进行 PCR 扩增反应。
- PCR 反应体系为 25 μL, 设置 FAM 检测通道读取, 在反应阶段 3 中 60°C 时收集荧光信号, 具体程序如下:

反应阶段	温度	时间	信号收集	循环数
1	42°C	10min		1
2	95°C	10 sec		1
3	95°C	5 sec	√	40
	60°C	30 sec		

注: 对于 ABI 系列荧光定量 PCR 仪器, 其反应体系中无需添加 ROX, 且在软件设置时, 在 "Passive Reference" 和 "Quencher" 处均选择 "None"。

3. 结果

一般情况下, 可通过软件自动设定的基线、阈值等直接读取检测结果。如需调整, 可根据所使用仪器的自身情况 (如噪声等) 以及选取的不同荧光通道进行调整。

1) 质量控制:

阴性对照未出现明显的 S 型扩增曲线或 Ct 值 > 37, 阳性对照出现 S 型扩增曲线且其 Ct 值 < 30。若阴阳性对照未同时满足上述条件, 则本次检测结果无效, 应重新检测或与产品技术支持联系。

2) 结果判读:

- ① 无 Ct 值, 且未出现典型的 S 型扩增曲线, 为阴性结果, 判定为 TiLV 未检出;
- ② Ct 值 \leq 37, 且出现典型的 S 型扩增曲线, 为阳性结果, 判定为 TiLV 检出;
- ③ Ct 值 $>$ 37, 且出现典型的 S 型扩增曲线, 建议重新检测, 若重检后 Ct 值 \leq 37, 且出现典型的 S 型扩增曲线, 则判定为阳性结果, 反之则为阴性结果。

【注意事项】

1. 实验环境条件和过程控制应参照 GB/T 27403《实验室质量控制规范食品分子生物学检测》规定执行。
2. 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文, 检测过程中建议穿洁净工作服, 戴一次性手套, 使用的移液枪头需提前灭菌。
3. 试剂盒中试剂使用前需充分融化、混匀, 短暂离心后使用, 期间需尽量避免产生气泡, 加样完毕后检查反应管是否盖紧, 避

免泄露造成污染。

4. 待检测样品基因变异可能会造成假阴性结果; 待检测样品交叉污染、实验室环境污染以及试剂污染均会造成假阳性结果。
5. 不同批号的产品请勿混合使用, 请在产品有效期内使用试剂盒, 由于操作不当引起的误判, 以及由此误判引发的其他事项, 本公司概不负责。
6. 检测完毕后, 根据相关规定正确处理废弃耗材以及扩增产物。

【生产企业】

企业名称: 广东环凯生物科技有限公司
生产地址: 肇庆高新技术产业开发区科技大街中 13 号
邮政编码: 526238
技术热线: 020-32078333-8877
企业网址: <http://www.bhkbio.com>

【说明书修改时间】

2020 年 9 月 22 日