

虾血细胞虹彩病毒 (SHIV) 核酸检测试剂盒 (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: 虾血细胞虹彩病毒 (SHIV)
PCR 检测试剂盒 (荧光探针法)

英文名称: PCR Detection Kit for Shrimp Hemocyte Iridescent Virus (Fluorescent Probe Assays)

【包装规格】48 测试/盒

【产品编号】FZ008AF2

【产品简介】

本试剂盒适用于虾血细胞虹彩病毒 (SHIV) 的检测。

【检测原理】

基于 Real Time PCR 技术, 利用针对 SHIV 检测的特异性基因 ATPase, 合成相应的引物和荧光探针, 加入其他反应所需试剂以及待检核酸样品, 即可进行扩增反应。在发生扩增过程中, 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 SHIV 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 DNA 提取试剂盒提取获得相应的 DNA 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 2 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	95°C	10 sec		1
2	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 SHIV 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 SHIV 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. 实验操作应按照国家有关临床基因扩增实验室管理规范执行,实验过程应至少分为三个区(样品处理区、反应混合物配制区、核酸扩增区),各区物品为专用,不得交叉使用,避免污染。
- 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 11 月 10 日