

旋达[®]R1动物疫病检测系列

急性肝胰腺坏死病(AHPND/EMS)病原核酸检测试剂盒（恒温荧光法）

请于-20℃条件下保存，有效期 12 个月

◆ 产品说明

旋达[®]R1动物疫病检测系列基于独特的恒温荧光检测技术，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。本产品用于急性肝胰腺坏死病(AHPND/EMS)病原的检测，**检出限为 10^3 copies/μl 基因组 DNA。**

◆ 产品组成（48 测试）

031151MIII	
试剂	含量
A-EMS-I	22μL×48 管
B-I	90μL×1 支
PG-EMS-I	50μL×1 支

◆ 适用仪器

Dhelix-Q5、ESE Tube Scanner、Genie II、Deaou-308C 等恒温荧光检测仪，ABI 7500，LightCycler480，CFX 96 等荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管；②冰盒；③移液器（0.1-2.5μL，0.5-10μL，10-100μL，100-1000μL）及配套灭菌吸头；④离心机；⑤涡旋混匀器；⑥金属浴

◆ 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

参照相关标准处理样品，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）

建议使用病原微生物 DNA/RNA 提取试剂盒等商品化试剂盒，具体过程详见产品说明书。

2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒中进行）

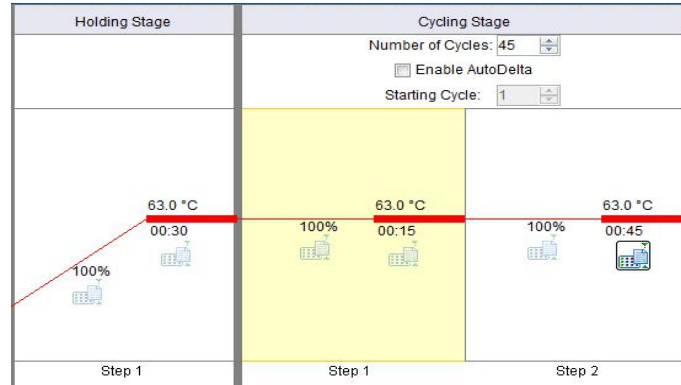
取出所需测试数的已含有反应液 A-EMS-I 的 PCR 管，将试剂完全解冻，离心 30 秒，在管盖上标记管名（阴性

对照管 NG、样品 XX、阳性对照管 PG)。打开管盖向各管管底分别加入 1 μ L B-I, 盖上阴性对照管管盖, 其他各管分别沿管壁加入 2 μ L 模板, 顺序为待测样品模板、PG-EMS-I, 依次盖好各管管盖, 涡旋混匀 30s, 离心 1min, 立即进行扩增反应。

3. 扩增反应 (扩增及产物分析区)

①恒温仪器 63 $^{\circ}$ C 条件下反应 45 min。待仪器升温至 63 $^{\circ}$ C 后, 新建程序, 设置实验名称及反应时间, 将步骤 2 中离心后的 PCR 反应管放入恒温荧光分子检测仪, 点击开始检测。

②若使用荧光定量 PCR 仪, 则荧光基团选择 FAM, 淬灭基团选择 None, 将 63 $^{\circ}$ C 15 s, 63 $^{\circ}$ C 45 s 作为一个循环, 于 63 $^{\circ}$ C 45 s 处收集荧光信号, 45 个循环。



若使用其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

◆ 结果判定

①恒温仪器自动判定结果, 若显示“阳性”或“+”, 则样品中含有急性肝胰腺坏死病(AHPND/EMS)病原; 若显示“阴性”或“-”, 且没有出现 S 型扩增曲线, 则样品中不含有急性肝胰腺坏死病(AHPND/EMS)病原或含量低于检测限。

②在荧光定量 PCR 仪上, 根据有无“S”型扩增曲线判定结果。若有“S”型扩增曲线, 则样品中含有急性肝胰腺坏死病(AHPND/EMS)病原; 若无“S”型扩增曲线, 则样品中不含有急性肝胰腺坏死病(AHPND/EMS)病原或含量低于检测限。



★ NG 反应管结果显示“阴性”, PG 反应管结果显示“阳性”, 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
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