



猪轮状病毒探针法荧光 RT-LAMP 试剂盒

PRV Probe RT-LAMP Kit

货号: JLC_Y7449

使

用

说

明

书

产品及特点	猪轮状病毒 (Porcine Rotavirus, PRV)是猪群中常见的引起腹泻性疾病的主要病原。 幼龄仔猪易感, 1~4 周龄仔猪发 病率超过 80%, 死亡率达 7% ~20%, 症状也较严重。同时, 由于该病常与其他疾病混合感染, 使病情加重, 导致死亡率增高, 给养殖户带来严重的经济损失。因此 PRV 的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用, 为此, 本公司开发了本检测试剂盒, <u>它具有下列特点:</u> 1. 即开即用, 用户只需要提供病毒 RNA 样品。 2. 恒温扩增, 可以不需要贵重的荧光 PCR 等贵重仪器。 3. 含探针, 可以进一步提高专一性。 4. 检测灵敏性可以达到 100 拷贝/反应左右。 5. 特异性高, 扩增引物和检测探针均根据猪轮状病毒 RNA 保守序列设计, 不会跟其他生物的 RNA 发生交叉反应。 6. 一般 30 分钟内出结果, 比 RT-PCR 快。 7. 提供无传染性的阳性对照, 便于分析实验结果。 8. 提供内参, 便于识别假阴性。 9. 本产品只能用于定性分析, 不推荐用于定量分析。 10. 上样量大, 对 20 μL 的反应体系, 样品加样量高达 13μL。 11. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。 12. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法荧光 RT-LAMP 扩增。 13. 只可用于科研。
--------------	---

规格及成分	成分	规格	包装
	RT-LAMP MasterMix (探针法, 待加酶)	200 μL	0.5mL 本色盖
	逆转录酶-扩增酶混合液	100 μL	0.5mL 红盖管
	20×猪轮状病毒 RT-LAMP 引物探针混合液干粉	50 次	0.5 mL 白盖管
	猪轮状病毒 RT-LAMP 阳性对照	2.5×10E6 拷贝	0.5 mL 黄盖管
	猪轮状病毒 RT-LAMP 内参	5×10E6 拷贝	0.5mL 蓝盖管
	使用手册	1 份	无
	本产品采购五孔盒包装		
	注 意: 首次使用本产品的时候, 需要在引物探针混合液干粉管中加入 60uL 的自备超纯水, 在阳性对照管和内参管中分别加入 250uL 和 500uL 超纯水, 使得阳性对照和内参的浓度均为 1×10E4 拷贝/μL。这些溶液用后还有剩余的需放-20℃保存, 阳性对照和内参由于是高浓度的模板, 容易污染没有模板的 Mix、引物探针混合液和水, 因此需要在专门的场地进行稀释。		
使用方法	一、样品 RNA 的制备		
	1. 用自选方法纯化样品 RNA, 本试剂盒跟市场上大多数 RNA 提取试剂盒兼容, 包括本公司的免提取的核酸释放剂。		
	2. 如果有 N 个样品, 则需要做 N+2 个样品制备, 包括一个样品制备阳性对照 (PC) 和一个样品制备阴性对照 (NC)。PC 用 10μL 本试剂盒提供的阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL) 加一定量的水充当, 总体积必须跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样品体积一样, NC 用水替代。		
	3. N+2 个样品的每个样品在纯化前, 每个都要加入本试剂盒提供的 10μL 猪轮状病毒 RT-LAMP 内参 (1×10E4 拷贝/μL), 相当于每个样品在进行核酸纯化前, 含有 1×10E5 个拷贝的内参分子。		
	二、探针法荧光 RT-LAMP 反应 (20μL 体系)		
	4. 注意: 第一次使用一个新的试剂盒时, 必须先将 100uL 逆转录酶-扩增酶混合液全部加入到 RT-LAMP MasterMix (探针法, 待加酶) 中, 盖上盖子后轻柔颠倒 1 分钟混匀, 然后再取用。		
	5. 反应设置: 如果有 N+2 个 RNA 纯化样品, 则设置 N+5 个 RT-LAMP 扩增, 增加一个阴性对照、一个内参扩增对照和一个阳性对照。在 N+5 个 PCR 管中加入下列成分:		

	成分	N+2 个样品管	扩增阴性 对照	扩增阳 性对照	扩增内 参对照
	RT-LAMP MasterMix（探针法，已加酶）	各 6 μL	6 μL	6 μL	6 μL
	20×人类内源性逆转录病毒 R 家族探针法 qRT-LAMP 引物-探针混合液	各 1 μL	1 μL	1 μL	1 μL
	N+2 个样品 RNA	各 13 μL	-	-	-
	超纯水	-	13 μL	-	
	猪轮状病毒 RT-LAMP 阳性对照（1×10E4 拷贝/μL）	-	-	13 μL	
	猪轮状病毒 RT-LAMP 内参（1×10E4 拷贝/μL）	-	-		13 μL
	6. 本产品含两种探针，故在设置荧光 PCR 仪时，设置 60 次循环，每次 65℃保温 1 分钟，采集 FAM 和 HEX 两个通道的荧光信号。FAM 是样本探针的荧光标记，HEX 是内参探针的荧光标记，淬灭基团均是 TAMRA。 三. 结果分析 7. 判断实验有效性：扩增阴性对照必须没有 FAM 信号的扩增（扩增是指 Ct 在 40 以内，荧光信号呈现标准的 S 型扩增曲线。任何一个不满足此两个条件，均判读为无扩增。下同），扩增阳性对照必须有 FAM 信号的扩增，否则整个实验无效，需要分析原因。扩增阴性对照如果有扩增，表示实验试剂或环境有模板 DNA 的污染。扩增阳性对照没有 FAM 信号的扩增表示试剂盒或扩增设备或操作有问题，需要分别排查。找到原因并解决问题后方可重启实验。 8. 如果实验有效，则可以分析 N+2 个样品的情况。 情况 1、FAM 信号有扩增，则此样品应判为阳性，不论 HEX 信号有无扩增。 情况 2、样 FAM 信号无扩增，但 HEX 信号有扩增，则此样品应判为阴性； 情况 3、FAM 信号和 HEX 信号均无扩增，此样品应判为假阴性（可能原因之一是此样品中有抑制物，也可能核酸在纯化过程中丢失）。此样品需要稀释不同倍数后再测或/和重新进行核酸制备。				
自备试剂	待测样品。				

运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。
--------------	----------------------

生产企业：上海机纯实业有限公司

公司地址：上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603

公司电话：021-54720761

技术支持：13166274223