



十足目虹彩病毒 1 型探针法 LAMP 试剂盒

Decapod Iridescent Virus 1 Probe LAMP Kit

仅

供

科

研

使

用

	<p>十足目虹彩病毒 1 型 (Decapod Iridescent Virus 1, DIV1) , 又叫虾虹彩病毒, 是近几年来威胁罗氏沼虾养殖产业的重要病害之一, 可感染南美白对虾、罗氏沼虾、红螯螯虾等虾类, 且具有不同的外观症状。其中, 在罗氏沼虾上, 典型的特征是额剑基部甲壳出现一块白色三角形区域, 称为“白点”, 部分虾有空肠空胃、肝胰腺萎缩等症状。在水产研究所长期性病原监测的过程中发现, 虾虹彩病毒携带率较高, 具有感染性强、致死率高的特点, 且呈现出逐年增长的趋势。因此对十足目虹彩病毒 1 型的快速准确鉴定有重要意义。本公司根据独自开发的探针法 LAMP 技术, 开发了简单快捷的十足目虹彩病毒 1 型探针法 LAMP 检测试剂盒, 它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用, 用户只需要提供 DNA 样品。 2. 恒温扩增, 反应设置更加简单。 3. 含荧光探针, 可以对扩增进行实时荧光检测 (需要荧光 PCR 仪) 。 4. 检测灵敏性一般比 PCR 高 10 倍以上。 5. 特异性高, 根据十足目虹彩病毒 1 型保守序列设计的 4 条特异引物和 1 条探针, 不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。 6. 一般 30 分钟内出结果, 比 PCR 快。 7. 上样量大, 对 20 μL 的反应体系, 样品加样量高达到 14 μL。 8. 内含的 dUTP-UNG 可防交叉污染。 9. 提供无传染性的阳性对照, 便于分析实验结果。 10. 提供内参, 便于排除假阴性结果。 11. 本产品只能用于定性分析, 不推荐用于定量分析。 12. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 LAMP 扩增。 13. 本产品只可用于科研。
--	--

	成分	规格	包装
	4×LAMP MasterMix (探针法, 待加酶)	200 μL	0.5mL 绿盖管
	Bst DNA 聚合酶 2.0	50 μL	0.5mL 红盖管
	20×十足目虹彩病毒 1 型探针法 LAMP 引物-探针混合干粉	50 μL	0.5mL 棕盖管

十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 阳性对照(1×10^4 拷贝/mL)	250 μ L	0.5mL 黄盖管
十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 内参对照(1×10^4 拷贝/mL)	250 μ L	0.5mL 紫盖管
使用手册	1 份	无
本产品采购五孔盒包装		
注 意: 引物探针混合干粉在使用前需要短暂离心, 然后在离心管中加入 55 μ L 的超纯水充分混匀和再使用, 未用完的需要-20°C 保存。		

一、样品 DNA 的制备

1. 用自选方法纯化样品 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数 DNA 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 10 mL 本试剂盒提供的样品阳性对照 (1×10^4 拷贝/mL) 和 10 mL 内参阳性对照 (1×10^4 拷贝/mL) 加一定量的水作为核酸提取阳性对照样品, 加水后的总体积必须跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。NC 用 10 mL 本试剂盒提供的 10 mL 内参阳性对照 (1×10^4 拷贝/mL) 加一定量的水充当, 加水后的总体积必须跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致。

三、探针法 LAMP 反应 (20 mL 体系)

使用方法

3. 反应设置: 如果有 N+2 个 DNA 纯化样品, 则设置 N+4 个 LAMP 扩增, 增加的两个反应分别是 LAMP 扩增阳性对照和 LAMP 扩增阴性对照。首次使用本试剂盒时, 需要将 Bst DNA 聚合酶 2.0 全部加入到 4×LAMP MasterMix (探针法, 待加酶) 中, 轻柔颠倒混匀 1 分钟后再使用。未用完的部分需要放-20°C 保存。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分:

成分	N+2 个样品管	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4×LAMP MasterMix (探针法, 加酶后)	各 5 μ L	5 μ L	5 μ L
20×十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 引物-探针混合液	各 1 μ L	1 μ L	1 μ L
N+2 个样品 DNA	各 14 μ L	-	-
超纯水	-	14 μ L	-

	十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 阳性对照(1×10^4 拷贝 /mL)			3.5 μ L
	十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 内参对照(1×10^4 拷贝 /mL) (含内参, 1-6 号)	-	-	3.5 μ L
4. 如果使用荧光定量 PCR 仪，则设置 60 次循环，每次 65°C 保温 1 分钟，采集 FAM 通道和 HEX 通道的荧光信号。				
四. 结果分析				
5. 实验有效性的判断：样品制备阳性对照和 LAMP 阳性对照的 FAM 信号（对应样本）和 HEX 信号（对应内参）必须有标准的 S 扩增曲线，样品制备阴性对照的 HEX 信号（对应内参）必须有标准的 S 扩增曲线，LAMP 阴性对照的 FAM 信号和 HEX 信号必须呈现一条平线，没有 S 曲线，否则提取实验或扩增实验无效。如果上述阳性对照和阴性对照结果正常，则实验有效，可以分析样品的情况。				
待测样品的结果判断：在实验有效的情况下，才有必要分析待测样品管的荧光信号。如果其 FAM				
6. 荧光信号曲线为 S 型（无论 HEX 信号如何），则说明样品为阳性。如果 FAM 荧光信号为平线则说明待测样品为阴性。如果 HEX 荧光信号为 S 曲线，说明待测样品（FAM 曲线）为真阴性。如果 HEX 荧光信号也是平线，说明此样品可能是假阴性，此样品需要重复测试				
PCR 编号	TW-E10293			
说明书	1 份			
自备试剂	样品 DNA, 超纯水			
运输及保存	低温运输, -20°C 保存, 有效期 1 年			

上海通蔚

生产企业: 上海通蔚实业有限公司

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: 021-54845833

技术支持: 15800441009