

牛呼肠孤病毒探针法荧光定量 RT-PCR 试剂盒说明书

试剂盒简介为了适应牛呼肠孤病毒探针法荧光定量 RT-PCR 试剂盒快速检测和疫病研究的需要，本公司参照 OIE 国际标准中规定的引物序列，经多次实验及系统优化，开发生产了本试剂盒。应用本试剂盒进行检测具有快速、灵敏、特异、准确、操作简单、应用广泛和高通量检测等特点及优点。

2、试剂盒组成：

试剂盒组成包括核酸提取试剂和核酸扩增试剂，具体组成参见表 1：s

表 1：试剂盒组成（50test/盒）

组成成分	体积
样品 DNA 提取液1	5ml×1 管
样品 DNA 提取液2	500μl×1 管
核酸扩增试剂： DEPC 水	5ml×1 管
BP PCR 反应液	750μl×1 管
Taq 酶(5U/ul)	40μl×1 管
阴性对照	1ml×1 管
BP 阳性对照	1ml×1 管

试剂盒组成及试剂配制：

1. 酶联板（Assay plate）：一块（96 孔）。
2. 标准品（Standard）：2 瓶（冻干品）。
3. 样品稀释液（Sample Diluent）：1×20ml/瓶
4. 生物素标记抗体稀释液（Biotin-antibody Diluent）：1×10ml/瓶。
5. 辣根过氧化物酶标记亲和素稀释液（HRP-avidin Diluent）：1×10ml/瓶。
6. 生物素标记抗体（Biotin-antibody）：1×120 μl/瓶（1: 100）
7. 辣根过氧化物酶标记亲和素（HRP-avidin）：1×120 μl/瓶（1: 100）
8. 底物溶液（TMB Substrate）：1×10ml/瓶。
9. 浓洗涤液（Wash Buffer）：1×20ml/瓶，使用时每瓶用蒸馏水稀释 25 倍。
10. 终止液（Stop Solution）：1×10ml/瓶（2N H2SO4）。

样本处理及要求：

1. 血清：全血标本请于室温放置 2 小时或 4℃过夜后于 1000g 离心 20 分钟，取上清即可检测，或将标本放于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
2. 血浆：可用 EDTA 或肝素作为抗凝剂，标本采集后 30 分钟内于 2 - 8° C 1000g 离心 20 分钟，或将标本放于-20℃或-80℃保存，但应避免反复冻融。
3. 组织匀浆：用预冷的 PBS（0.01M, pH=7.4）冲洗组织，去除残留血液（匀浆中裂解的红细胞会影响测量结果），称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS（一般按 1:9 的重量体积比，比如 1g 的组织样品对应 9mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂）加入玻璃匀浆器中，于冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细

胞，可以对匀浆液进行超声破碎，或反复冻融。将匀浆液于 $5000\times g$ 离心 $5\sim 10$ 分钟，取上清检测。

4. 细胞培养物上清或其它生物标本： $1000g$ 离心 20 分钟，取上清即可检测，或将标本放于 -20°C 或 -80°C 保存，但应避免反复冻融。

操作流程：

1. 从室温平衡 20min 后的铝箔袋中取出所需板条，剩余板条用自封袋密封放回 4°C 。
2. 设置标准品孔和样本孔，标准品孔各加不同浓度的标准品 $50\ \mu\text{L}$ ；
3. 样本孔中加入待测样本 $50\ \mu\text{L}$ ；空白孔不加。
4. 除空白孔外，标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体 $100\ \mu\text{L}$ ，用封板膜封住反应孔， 37°C 水浴锅或恒温箱温育 60min。
5. 弃去液体，吸水纸上拍干，每孔加满洗涤液（ $350\ \mu\text{L}$ ），静置 1min，甩去洗涤液，吸水纸上拍干，如此重复洗板 5 次（也可用洗板机洗板）。
6. 每孔加入底物 A、B 各 $50\ \mu\text{L}$ ， 37°C 避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 $50\ \mu\text{L}$ ，15min 内，在 450nm 波长处测定各孔的 OD 值。

样本：血清 血浆 组织匀浆等液体样本

标记物：血清 血浆 组织匀浆等

应用：仅用科研实验检测定量，定性检

检测方法：夹心法

技术要求：全程按说明书步骤检测，操作规范，专业，仪器设备齐全。

规格：48t/96t

性状：液体

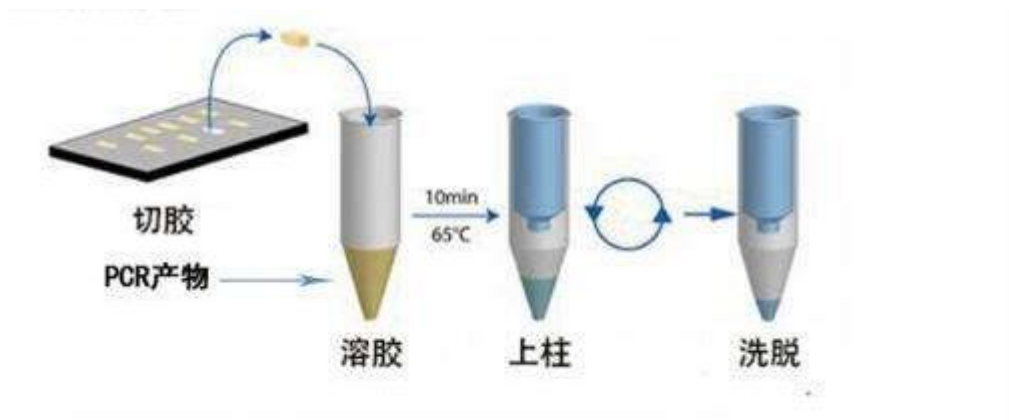
运输方式：快递发货

有效期：6 个月品

特点：灵敏性高，---性，吸附均匀，吸附性好，回收利用率高，是一款可以让您放心选购的产品。

使用范围：此产品供科研实验使用，不得用于---。

用途：用于测定人血清、血浆、组织及相关液体样本中的含量或活性。



注：本公司提供试剂盒免费代测服务。需要其他检测试剂盒请咨询销售人员。