

## 汉坦病毒通用染料法荧光定量 RT-PCR 试剂盒说明书

### 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): 1×120μl/瓶 (1: 100)
7. 辣根过氧化物酶标记亲和素 (HRP-avidin): 1×120μl/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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。

### 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×g 离心 5~10 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℃ 或 -80℃ 保存, 但应避免反复冻融。

1、试剂盒简介: 为了适应汉坦病毒通用染料法荧光定量 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、安全操作简单、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/μl)	40μl × 1 管
阴性对照	1ml × 1 管
BP 阳性对照	1ml × 1 管

### 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℃。

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 $\mu$ L；
3. 样本孔中加入待测样本 50 $\mu$ 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 $\mu$ L，用封板膜封住反应孔，37 $^{\circ}$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ L，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15min。
7. 每孔加入终止液 50 $\mu$ 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：灵敏度高，--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。

注意事项：

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。

2. 各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。

3.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值大于标准品孔 di 一孔的 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（n 倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（ $\times n \times 5$ ）。

4.封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。

5.底物请避光保存。

6.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

7.所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。

8.本试剂不同批号组分不得混用。

9.不能使用过期产品。

10. 如与英文说明书有异，以英文说明书为准。

每个样品测试反应体系配制见下表 2。

表 2 每个样品测试反应体系配制表

试剂	PCR 反应液	Taq 酶	合计
用量	14.5 $\mu\text{L}$	0.5 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$

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。