

十足目虹彩病毒 1 型探针法 LAMP 试剂盒

Decapod Iridescent Virus 1 Probe LAMP Kit

目录号: **ml108205**

使 用 说 明 书

产品及特点

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 LMAP 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:**

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 μ L 的反应体系，样品加样量高达 14 μ L。
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 μ L 体系的探针法 LAMP 扩增。
13. 本产品只可用于科研。

规格及成分

成分	规格	包装
4×LAMP MasterMix (探针法，待加酶)	200 μ L	0.5mL 绿盖管
Bst DNA 聚合酶 2.0	50 μ L	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 μ L	0.5mL 棕盖管
十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 阳性对照(1×10E4 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(1×10E4 拷贝/mL)	250 μ L	0.5mL 紫盖管
使用手册	1 份	无
本产品使用五孔盒包装		
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℃保存。		

使用方法

二、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)

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℃ 保存。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分：

成分	样品管 N+2 个	LAMP 阴性对照	LAMP 阳性对照
4×LAMP MasterMix（探针法，加酶后）	各 5μL	5μL	5μL
20×十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 引物-探针混合液	各 1μL	1μL	1μL
N+2 个样品 DNA	各 14μL	-	-
超纯水	-	14μL	-
十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 阳性对照(1×10^4 拷贝/mL)			3.5μL
十足目虹彩病毒 1 型 LAMP 内参对照(1×10^4 拷贝/mL)	-	-	3.5μL

	贝/mL) (含内参, 1-6 号) 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, 才有必要分析代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, 说明代测样品 (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。
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。