

汉滩型汉坦病毒染料法荧光定量RT-PCR试剂盒说明书

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。

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 μ l/瓶 (1: 100)
7. 辣根过氧化物酶标记亲和素 (HRP-avidin) : 1×120 μ l/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) 。

样本采集、存放及运输:

- 1、样本采集: 各类型样本按照常规方法采集;
- 2、存放: 样本在2~8℃条件下保存应不超过72h, -70℃以下可长期保存, 但应避免反复冻融 (zui多冻融3次);
- 3、运输: 采用泡沫箱加冰密封进行运输。

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 (×n×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。