

Hướng dẫn sử dụng KIT Nipah

❖ Thành phần bộ KIT

Hóa chất	Bảo quản
Nipah primer mix	Ngăn đông
Chứng dương DNA Nipah	Ngăn đông

Bộ sinh phẩm chuẩn đoán virus Nipah được phát triển bởi CDC nhắm đến target là Nucleocapsid gene. Bộ sinh phẩm bao gồm: chứng dương DNA của Nipah, mồi xuôi, mồi ngược, probe để phát hiện gene của Nipah và gene chứng nội (internal control – IC) của người.

*Quy trình PCR

Chuẩn bị mix phản ứng:

Thành phần phản ứng PCR	Thể tích hút cho một phản ứng
U + One step RT-qPCR Probe 5X Master mix	4 μ L
50X ROX Reference Dye 2	0.4 μ L
Nipah primer mix	1 μ L
Nước cất PCR	12.6
Tổng thể tích trước mix template	18 μ L

*Mix Template

- ✓ Mẫu ly trích: Hút 2 μ L bơm vào tube PCR (*tổng thể tích cho phản ứng PCR là 20 μ L*)
- ✓ Mẫu chứng dương: Hút 2 μ L DNA chứng dương bơm vào tube PCR (*tổng thể tích cho phản ứng PCR là 20 μ L*)
- ✓ Mẫu chứng âm: Hút 2 μ L nước cất PCR bơm vào tube PCR (*tổng thể tích cho phản ứng PCR là 20 μ L*)

1. Ly tâm 10 giây để kéo toàn bộ dung dịch xuống đáy tube

2. Thực hiện phản ứng PCR

Đặt các mẫu đã chuẩn bị vào máy qPCR/PCR và cài đặt chu trình nhiệt^(*) như sau:

Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
55°C	15 phút	1
95°C	1 phút	1
95°C	10 giây	40
57°C (đọc tín hiệu)	30 giây	

✚ Lưu ý: Cài đặt kênh màu

+ Kênh màu FAM: phát hiện Nipah

+ Kênh màu HEX: phát hiện chứng nội (internal control – IC)