

# 细胞病毒检测报告

## Cell Virus Detection Report

### 样品信息

样品编号:

客户样本编号	公司编号
	HD11 鸡巨噬细胞

样品数量: 1

样品性状: 细胞系

检测项目: 基因表达检测

送检单位: 厦门逸漠生物科技有限公司

# 说明

1. 本报告仅对所提供样本的检测结果负责，不代表其他样本或批次。
2. 报告中的检测结果及检测单位名称未经授权，不得用于任何形式的广告、评比、认证或商业宣传。
3. 如对本报告内容有异议，请在收到报告之日起十五个工作日内以书面形式提出，逾期将不予受理。
4. 对于任何未经授权的涂改、增删或未加盖检测单位正式印章的报告复印件，本单位均不承担任何法律责任。
5. 本报告的检测结果仅供参考，最终解释权归检测单位所有。
6. 报告一旦发出，未经检测单位书面同意，不得以任何形式进行复制或分发。
7. 请妥善保管本报告，如有遗失或损坏，检测单位不负责重新出具。
8. 检测单位保留对本报告内容进行更新和修订的权利，以确保检测标准和方法的准确性和时效性。

签发日期：2024年12月20日



## 1. 摘要

本项目利用 PCR 扩增的方法，利用 RNA 提取试剂盒对客户提供的样品进行 RNA 提取，逆转录。然后通过 PCR 扩增，琼脂糖电泳检测。

## 2. 样品编号

样品编号	样品描述
HD11	鸡巨噬细胞

## 3. 实验材料描述

### 3.1 主要试剂

试剂名称	试剂来源	cat.No
BM2000 + DNA Marker	博迈德	MD102-01
琼脂糖	Biowest agarose	
2 × Taq Master Mix	苏州诺唯赞生物	P111-01
Primer	铂瑞生物	
RNA Isolater Total RNAExtraction Reagen	南京诺唯赞	R401-01
HiScript II Q RT SuperMix for qPCR	南京诺唯赞	R223-01

### 3.2 主要仪器及器材

仪器名称	仪器来源	cat. No.
PCR 仪	西安天隆科技	Genesy 96T
Positive clone 测序	铂瑞生物技术	

---

稳压 DNA 电泳仪	天能公司	EPS300
凝胶成像仪	培清科技	JS-780
高速离心机	湘仪	TG16-W
移液器	大龙公司	

---

#### 4. 实验步骤

##### 1) 细胞收样

- a) 每孔细胞加入 1ml RNA isolater, 使之充分覆盖到细胞表面, 然后用移液器将细胞吹打下来。
- b) 将裂解液转移至 1.5ml 离心管中, 用移液器反复吹打直至无明显颗粒样存在。冰上静置 5 分钟。

##### 2) RNA 提取

- a) 向裂解液中加入 1/5 体积的氯仿。盖紧离心管盖, 用手剧烈震荡 15 秒, 成乳浊液, 4°C 静置 5 分钟。
- b) 12, 000g 4°C 离心 15 分钟。注意此步必须是低温离心, 否则产物会有少量基因组污染。
- c) 小心取出离心管。此时溶液分为三层: 无色的上层、白色中间层以及红色的下层。小心吸取上层水相至一个新的离心管中。
- d) 加入等体积的异丙醇, 上下颠倒混匀。 -20°C 放置 30 分钟。
- e) 12, 000g, 4 °C 离心 10 分钟。通常可以看到白色沉淀。

- f) 小心弃去上清，加入 1ml 用 DEPC 水配置的 75%乙醇。充分洗涤管盖和管壁，并轻弹管底，让沉淀悬浮起来，并静置 3-5 分钟。
- g) 12, 000g, 4°C离心 5 分钟，弃去上清。
- h) 在洁净的环境中室温敞口干燥沉淀 2-5 分钟。注意不可过分干燥，否则会导致 RNA 难以溶解。
- i) 加入适量的 DEPC 水溶解沉淀，必要时可用移液器轻轻吹打几下。待完全溶解后取少量检测 RNA 浓度及完整性，其余在-80°C保存。

#### 4.1 RNA 逆转录

##### 1. 基因组DNA去除

在RNase-free的离心管中配置如下混合液

RNase free ddH <sub>2</sub> O	to 16 $\mu$ l
4 x gDNA wiper Mix	4 $\mu$ l
模板RNA	Total RNA:1 pg-1 $\mu$ g

用移液器轻轻吹打混匀，42°C 2min。

##### 2. 配置逆转录反应体系

在第1步的反应管中直接加入5 x HiScript II qRT SuperMix II

5 x HiScript II qRT SuperMix II	4 $\mu$ l
第1步的反应液	16 $\mu$ l

用移液器轻轻吹打混匀。

## 2. 进行逆转录反应

25°C	10min
50°C	30min
85°C	5min

产物可立即用于PCR反应，或在-20°C保存，并在半年内使用；长期保存建议分装后在-80°C保存。cDNA应避免反复冻融。

## 4.3 引物合成

依据上述参考序列，设计2条PCR扩增引物，1：来源客户提供引物，2：公司设计引物，具体的序列信息如下：

来源	ID	序列	PCR 产物大小
1	ALV-F	GGAGAAGACACCCTTGCTG	303 bp
	ALV-R	TCGGCTGACGAGACTAACC	
2	ALV-F1	GTCCACTGCATGTTTCTCTG	178 bp
	ALV-R2	CGTGCTTCCAGTTGTTGTAC	

## 5. PCR 扩增

### 5.1 体系 (50 µl)

名称	体积
5*Primerstar Buffer	10 µl
dNTP (2.5 mM)	4 µl
Primerstar HS (1 U/ul, Takara)	1 µl

Primer F (10 μM)	1 μl
Primer R (10 μM)	1 μl
cDNA (约 100 ng)	0.2 μl
补足 ddH <sub>2</sub> O 至	32.8 μl

## 5.2 反应程序:

温度 (°C)	时间	
95	3min	
95	30s	} 30cycle
60	30s	
72	30s	
72	5min	

## 6. 实验结果

### 6.1 测序结果:

来源客户提供引物:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus strain ev-1, complete genome	Avian leukosis vi...	453	453	95%	6e-123	97.38%	7525	<a href="#">AY013303.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate TN/NKL/2/11, protease (pol) and envelope glycoprotein (env) genes, partial cds	Avian leukosis vi...	453	453	95%	6e-123	97.38%	960	<a href="#">JF913205.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate TN/NKL/3/11, protease (pol) and envelope glycoprotein (env) genes, partial cds	Avian leukosis vi...	453	453	95%	6e-123	97.38%	964	<a href="#">JF913206.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus strain CH/JXND2101, complete genome	Avian leukosis vi...	453	453	95%	6e-123	97.38%	7482	<a href="#">OR670961.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Gallus gallus breed White Leghorns endogenous virus ev genomic sequence	Gallus gallus	453	453	95%	6e-123	97.38%	1326	<a href="#">KR189007.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate LH091101E env protein precursor, gene, partial cds	Avian leukosis vi...	453	453	95%	6e-123	97.38%	2474	<a href="#">KF575325.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate SG-1E env protein precursor, gene, partial cds	Avian leukosis vi...	453	453	95%	6e-123	97.38%	2473	<a href="#">KF575327.1</a>

来源公司设计引物:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate GDYH-B1, complete genome	Avian leukosis v...	261	261	96%	2e-65	99.31%	7464	<a href="#">MK940585.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate GD1407 envelope protein (env) and gag protein (gag) genes, complete cds; an...	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7475	<a href="#">KU500034.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus strain SDAU1102, complete genome	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7652	<a href="#">KU159178.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus strain GD18JM01, complete genome	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7624	<a href="#">MT538241.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate GifN_001, complete genome	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7519	<a href="#">MK757486.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate SD110503R, complete genome	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7708	<a href="#">KF738251.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus strain CH/JXDX2203, complete genome	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7635	<a href="#">OR670971.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> Avian leukosis virus isolate PK19FA01, complete genome	Avian leukosis v...	259	259	95%	6e-65	99.31%	7703	<a href="#">MN956379.1</a>

## 6.2 实验结果描述:

根据对应测序结果, HD11 细胞携带 ALV 病毒序列。