



小麦线条花叶病毒 RT-PCR 试剂盒

产品及特点:

小麦线条花叶病毒(Wheat Streak Mosaic Virus, WSMV),是一种重要的检疫性有害生物,主要通过郁金香瘤蚜 *Aceria tulipae* 传播,传毒率为 25-100%,还可由小麦种子传毒。

该病毒自然寄主主要为麦类作物。在冬小麦上越冬,小麦返青后即在心叶危害产卵繁殖,抽穗后转入穗部,灌浆时转入小麦颖壳或麦粒表面,麦收后转入附近的玉米、高粱、糜子、狗尾草、冰草、芦苇及自生麦,秋播小麦出苗后转入麦田,构成侵染循环,实现定殖,因此该病毒传入后,定殖的可能性较大。小麦感病越早发病愈重,冬前发病不能拔节抽穗,提早枯死造成绝收;拔节期感病植株严重矮化,仅主穗和个别分蘖抽穗,穗小粒少有 40%植株无收;拔节后感病结实小穗减少,干粒重降低,单株减产 64%,造成很大的经济损失。因而一旦传入扩散,会对中国的农业生产造成潜在的威胁,且检疫风险为高。因此灵敏快捷地检测小麦线条花叶病毒具有重要的意义。本产品就是为满足此需求而开发的、专门检测小麦线条花叶病毒的 RT-PCR 试剂盒,

1. 一站式,用户不需要单独准备每种成分,包括引物和对照。
2. 根据小麦线条花叶病毒的保守基因序列设计的引物,具有良好的特异性。
3. 灵敏度可以达到 1000 拷贝/反应。
4. 使用一管式 RT-PCR 技术,RT 和 PCR 两步在一个试管内完成,不需要中间转移样品,降低了操作误差和可能的污染。
5. 本产品足够 50 次 20 μ L 体系的 RT-PCR。
6. 本产品只能用于科研,不能用于临床。



规格及成分:

编号	成分	规格
试剂一	5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	200 μL (橘黄盖)
试剂二	MMLV-Taq Mix	75 μL (红盖)
试剂三	超纯水	1 mL (亮黄盖)
试剂四	小麦线条花叶病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂五	小麦线条花叶病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10E8 /μL)	50 μL (黄盖)
试剂六	使用手册	1 份

注 为避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供专一的 DNA 片段作为阳性对照。

运输及保存:

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。收到货后阳性对照需要跟其他成分分开放置，因为其容易污染其他成分，造成假阳性。

自备试剂:

样品 RNA。

使用方法:

一、样品 DNA 的制备:

1. 如果有 N 个样品，必须设置 N+2 个提取，多出的一个是 PC (样品制备阳性对照)，一个是 NC (样品制备阴性对照)。可以用 10μL 小麦线条花叶病毒 PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液作为制备的阳性对照。可以用水作为制备的阴性对照。制备所得成为样品 RNA。



2. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数病毒 RNA 提取试剂盒兼容。可以选购本公司的柱式病毒 RNAout。

二、设置 RT-PCR 反应(20 μ L 体系):

3. 如果有 N+2 个样品，则标记 N+4 个 PCR 管(额外增加的两个管一个是 RT-PCR 阳性对照，另一个是 RT-PCR 阴性对照)并按照下表在 PCR 管中加入下列成分:

成份	N+2 个样品管	RT-PCR 阴性对照	RT-PCR 阳性对照
5 \times 双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 μ L	4 μ L	4 μ L
小麦线条花叶病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μ L	2 μ L	2 μ L
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 μ L	--	--
超纯水	--	12.5 μ L	--
小麦线条花叶病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5 μ L
MMLV-Taq Mix	1.5 μ L	1.5 μ L	1.5 μ L

4. 上机进行 RT-PCR, RT-PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
逆转录	42 $^{\circ}$ C	30 min
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95 $^{\circ}$ C	30 sec
	58 $^{\circ}$ C	30 sec
	72 $^{\circ}$ C	20 sec
最后延伸	72 $^{\circ}$ C	7 min

三、电泳检测:



5. 琼脂糖电泳检测扩增效果。如果阴性对照有扩增产物或阳性对照无扩增产物，则说明实验失败，需要分析实验失败的原因。只有在阴性对照没有扩增产物、阳性对照必须有预期条带出现，才有必要分析样品的实验结果，如果有预期片段大小的扩增产物则为阳性，如果无则为阴性。

上海纪宁实业有限公司(www.shjning.com)所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。