



# 桃丛簇花叶病毒 RT-PCR 试剂盒

## 产品及特点：

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. 根据桃丛簇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 $\mu$ 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 $\times$ 双酶一管式 RT-PCR Buffer                  | 200 $\mu$ L (橘黄盖) |
| 试剂二 | MMLV-Taq Mix                                    | 75 $\mu$ L (红盖)   |
| 试剂三 | 超纯水                                             | 1 mL (亮黄盖)        |
| 试剂四 | 桃丛簇花叶病毒 RT-PCR 引物混合液                            | 100 $\mu$ L (白盖)  |
| 试剂五 | 桃丛簇花叶病毒 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L) | 50 $\mu$ L (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 桃丛簇花叶病毒 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(20μL 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<br>样品管 | RT-PCR<br>阴性对照 | RT-PCR<br>阳性对照 |
|--------------------------------|--------------|----------------|----------------|
| 5×双酶一管式 RT-PCR Buffer          | 各 4 μL       | 4 μL           | 4 μL           |
| 桃丛簇花叶病毒 RT-PCR 引物混合液           | 各 2 μL       | 2μL            | 2μL            |
| N+2 个制备的 RNA 样品                | 各 12.5μL     | --             | --             |
| 超纯水                            | --           | 12.5μL         | --             |
| 桃丛簇花叶病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液 | --           | --             | 12.5μL         |
| MMLV-Taq Mix                   | 1.5 μL       | 1.5 μL         | 1.5 μL         |

4. 上机进行 RT-PCR，RT-PCR 反应参数为：



| 过程            | 温度   | 时间     |
|---------------|------|--------|
| 逆转录           | 42°C | 30 min |
| 预变性           | 95°C | 5 min  |
| PCR 反应 35 个循环 | 95°C | 30 sec |
|               | 58°C | 30 sec |
|               | 72°C | 20 sec |
| 最后延伸          | 72°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](http://www.shjning.com))所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**