



烟草环斑病毒 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. 根据烟草环斑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 \times 双酶一管式 RT-PCR Buffer | 200 μ L (橘黄盖) |
| 试剂二 | MMLV-Taq Mix | 75 μ L (红盖) |
| 试剂三 | 超纯水 | 1 mL (亮黄盖) |
| 试剂四 | 烟草环斑病毒 RT-PCR 引物混合液 | 100 μ L (白盖) |
| 试剂五 | 烟草环斑病毒 RT-PCR 阳性对照 (1 \times 10E8 / μ L) | 50 μ 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°C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 10 μ L 烟草环斑病毒 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 |
| 烟草环斑病毒 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 | -- |
| 烟草环斑病毒 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°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)所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。