



## 斜纹夜蛾核型多角体病毒 PCR 试剂盒

### 产品及特点:

斜纹夜蛾 斜纹夜蛾核型多角体病毒 ( Spodoptera lituraNucleopolyhedrovirus, SINPV) 是一种有效防治斜纹夜蛾的微生物农药, 已广泛用于斜纹夜蛾的田间防治, 具有害虫不易产生抗药性、对环境和非靶标生物安全、对斜纹夜蛾种群具有较高的致病和致弱作用等特点。然而室内饲养的斜纹夜蛾种群一旦感染 SINPV, 处理不当即可导致整个实验种群的灭绝, 严重影响斜纹夜蛾相关研究工作的顺利进行。本公司开发了斜纹夜蛾核型多角体病毒的 PCR 检测试剂盒, 它具有下列特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供 DNA 模板。
2. 引物经过精心优化, 专一性强, 只扩增斜纹夜蛾核型多角体病毒, 与其他病原没有交叉反应。
3. 提供阳性对照, 便于区分假阴性样品。
4. PCR mix 中含上样染料, PCR 后可以直接上样电泳。
5. 本试剂盒足够做 40 $\mu$ L 体系的 PCR 50 次, 但只能用于科研。

### 运输及保存:

| 编号  | 成分                                              | 规格               |
|-----|-------------------------------------------------|------------------|
| 试剂一 | PCR MagicMix 3.0                                | 1 mL (红盖)        |
| 试剂二 | 超纯水                                             | 1 mL (亮黄色)       |
| 试剂三 | 斜纹夜蛾核型多角体病毒 PCR 引物混合液                           | 100 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂四 | 斜纹夜蛾核型多角体病毒 PCR 阳性对照(1 $\times$ 10E8 / $\mu$ L) | 50 $\mu$ L (黄盖)  |



|     |      |     |
|-----|------|-----|
| 试剂五 | 使用手册 | 1 份 |
|-----|------|-----|

## 运输及保存：

低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。阳性对照需要单独放置，不要污染其他试剂。

## 自备试剂：

样品 DNA。

## 使用方法：

### 一、样品 DNA 的制备：

1. 用自选方法纯化 N+2 个样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数核酸提取试剂盒兼容。

可以选用本公司柱式病毒 DNAout。

2. 如果有 N 个样品，则需要做 N+2 个提取，包括一个样品制备阳性对照和一个样品制备阴性对照。样品制备阳性对照是在适量水（取决于试剂盒要求的样品起始量）中加 10μL 斜纹夜蛾核型多角体病毒 PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液而得，样品制备阴性对照是直接用水。提取结束后最后得到模板 DNA 放冰上待用。

### 二、设置 PCR 反应 (40μL 体系)：

3. 对 N+2 个样品，在 PCR 时需要增加一个 PCR 阳性对照和一个 PCR 阴性对照，故需要设置 N+4 个反应。在 N+4 个 PCR 管中分别加入下列成分：

| 成份                                        | N+2 个样品管 | PCR 阴性对照 | PCR 阳性对照 |
|-------------------------------------------|----------|----------|----------|
| PCR Magic Mix 3.0                         | 各 20μL   | 20μL     | 20μL     |
| 斜纹夜蛾核型多角体病毒 PCR 引物混合液                     | 各 2μL    | 2μL      | 2μL      |
| N+2 个样品 DNA 模板                            | 各 18μL   | --       | --       |
| PCR 阴性对照 (水)                              | --       | 18μL     | --       |
| PCR 阳性对照 (斜纹夜蛾核型多角体病毒 PCR 阳性对照 1000 倍稀释液) | --       | --       | 18μL     |



## 4. 按下表设置 PCR 反应:

| 过程            | 温度   | 时间     |
|---------------|------|--------|
| 预变性           | 95°C | 5 min  |
| PCR 反应 35 个循环 | 95°C | 30 sec |
|               | 55°C | 30 sec |
|               | 72°C | 40 sec |
| 最后延伸          | 72°C | 7 min  |

**三、电泳检测:**

5. 取 10-20  $\mu$ L PCR 产物。电泳检测 PCR 产物。本产品提供的 PCR Mix 在扩增结束后可以直接上样，不需要另外再加 loading buffer。PCR 产物阳性对照必须有 551bp 大小的条带出现，阴性对照必须无任何扩增，否则实验无效。对没有扩增产物的样品，可以稀释 10 倍后重复 PCR 扩增以排除 PCR 抑制剂的感染。

**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。**