

# 旋达R1植物病害检测系列

水稻条纹病毒<sup>RNA</sup>核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)

请于-20℃条件下保存,有效期 15 个月

# ◆ 产品说明

**旋达R1**本产品参考《SN/T 1666-2005 水稻条纹病毒、水稻矮缩病毒、水稻黑条矮缩病毒的检测方法 普通 RT-PCR 方法和实时荧光 RT-PCR 方法》开发,可针对水稻、玉米和媒介昆虫等样品中水稻条纹病毒的病原特异核 酸片段进行扩增,通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于对水稻条纹病毒的检测,检出限为 10<sup>1</sup> copies/µL。

## ◆ 产品组成(48测试)

092242M			
 试剂	含量		
A-RStV-P	20μL×8 管×6 排		
NG-P	100μL×2 支		
PG-RStV-P	100μL×1 支		

#### ◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene9600 等实时荧光 PCR 仪。

# ◆ 自备耗材和仪器

①冰盒;②移液器 $(0.5-10\mu L, 10-100\mu L, 100-1000\mu L)$ 及配套灭菌吸头;③离心机;④涡旋混匀器;⑤金属浴;⑥均质机、搅拌机或研钵等研磨器具;⑦电子天平。

# ◆ 注意事项

- 1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染,实验要分区操作。
  - 1) 第一区: 样本制备区。
  - 2) 第二区: 模板添加区。
  - 3) 第三区: 扩增及产物分析区。
  - ★ 分区之间最好进行物理性隔离,避免人为因素造成的污染。
- 2. 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套,不同区域独立使用工具,需更换手套和实验服。
- 3. 严格按照操作步骤操作,试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
- 4. 反应液中的成分对光敏感,应**避光保存**。试剂使用前要完全解冻,但应避免反复冻融,推荐使用前离心 30 秒。
  - 5. 反应结束后, 扩增管请置于密封袋内丢弃, 当日清理, 开盖易造成气溶胶污染, 禁止开盖。
  - 6. 不同批号试剂请**勿混合使用**,在有效期内使用。

#### ◆ 样品处理

参照《SN/T 1666-2005 水稻条纹病毒、水稻矮缩病毒、水稻黑条矮缩病毒的检测方法 普通 RT-PCR 方法和实时荧光 RT-PCR 方法》处理样品,制备的样本保存待用。

详细步骤请按照标准操作。

## ◆ 实验操作

1. 模板制备(样本制备区)

参照《SN/T 1666-2005 水稻条纹病毒、水稻矮缩病毒、水稻黑条矮缩病毒的检测方法 普通 RT-PCR 方法和实时荧光 RT-PCR 方法》进行,或使用合适的商品化核酸提取试剂盒,具体过程详见产品说明书。

2. 添加模板 (模板添加区,放置于冰盒上进行)



剪下所需测试数的已含有反应液的 PCR 管,放置在室温待解冻后,离心 30 秒后打开管盖,向每管反应液中分别加入 5 μ L 模板,顺序为 NG、待测样品模板、PG-RStV-P。盖好配套的 PCR 管盖后,涡旋混匀 30s,离心 1min,立即进行 PCR 扩增反应。

3. 扩增反应(扩增及产物分析区)

使用荧光定量 PCR 仪, 荧光基团选择 FAM, 淬灭基团选择 None。

按下列条件设置扩增反应:

PCR 循环		荧光收集位点	
50°C	5 分钟	1 个循环	
95°C	5 分钟	1 个循环	_
95°C	15 秒	40 个循环	
60°C	30 秒		*

其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

#### 4. 基线和阈值设定

基线调整取 3-15 个循环的荧光信号,阈值线应超过空白对照扩增曲线的最高点。

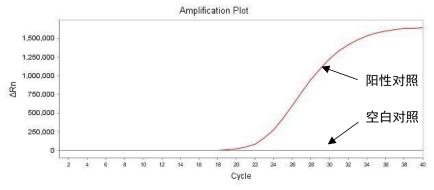
# ◆ 结果判定

测试样品检测 Ct 值为 40 时, 曲线为直线或轻微斜线, 无"S"型扩增曲线, 可判定样品不含有水稻条纹病毒或含量低于检出限;

测试样品检测 Ct 值小于或等于 35 时, 曲线呈"S"型扩增曲线, 可判定样品含有水稻条纹病毒;

测试样品检测 Ct 值小于 40 而大于 35 时,应重新进行测试,如果重新测试的 Ct 值为 40 时,则判定该样品不含有水稻条纹病毒或含量低于检出限;如果重新测试的 Ct 值小于 40 而大于 35 时,则判定样品含有水稻条纹病毒。

★ NG 反应为平滑直线,PG 反应为"S"型扩增曲线,此次检测结果有效,否则无效。如重复检测结果仍为无效,请与技术支持人员联系。



参考结果图

# ◆ 企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司 网址: www.dhelix.cn 电话: 020-85671013 传真: 020-34037175

地址:广州国际生物岛螺旋四路7号标准产业单元二期第三栋第三层302单元