



马铃薯病毒 Y 型 RT-PCR 试剂盒

产品及特点:

马铃薯 Y 病毒病又称烟草脉带病、烟草脉斑病毒病。由于病毒株系不同而表现出不同症状。主要有脉带花叶型、脉斑型和褪绿斑点型。脉带型在烟株上部叶片呈黄绿花叶斑驳，脉间色浅，叶脉两侧深绿，形成明显的脉带，严重时出现卷叶或灼斑，叶片成熟不正常，色泽不均，品质下降，烟株矮化。脉斑型下部叶片发病，叶片黄褐，主侧脉从叶基开始呈灰黑或红褐色坏死，叶柄脆，摘下可见维管束变褐，茎秆上现红褐或黑色坏死条纹。褪绿斑点型初期与脉带型相似，但上部叶片现褪绿斑点，后中下部叶产生褐色或白色小坏死斑，病斑不规则，严重时整叶斑点密集，形成穿孔或脱落。马铃薯 Y 病毒病：烟株发病初期出现明脉，不久形成花叶型的斑驳，随后小叶脉间颜色变淡，叶脉两侧的组织呈深绿色带状。受坏死株系侵染的病株，叶脉呈褐色至黑色坏死。本产品是根据 PCR 原理开发的马铃薯病毒 Y 型检测的试剂盒。

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. 根据马铃薯病毒 Y 型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	马铃薯病毒 Y 型 RT-PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂五	马铃薯病毒 Y 型 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 马铃薯病毒 Y 型 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 个样品管	RT-PCR 阴性对照	RT-PCR 阳性对照
5×双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 μL	4 μL	4 μL
马铃薯病毒 Y 型 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	--
马铃薯病毒 Y 型 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)所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。