

旋达®R1植物病害检测系列

柑橘黑斑病菌核酸检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

请于-20°C条件下保存，有效期 15 个月

◆ 产品说明

旋达®R1本产品参考《GB/T 40453-2021 柑橘黑斑病菌检疫鉴定方法》，可针对柑橘属及其杂交种苗木和果实中柑橘黑斑病菌等样品中的病菌特异核酸片段进行扩增，通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于对柑橘黑斑病菌的检测，**检出限为 10¹ copies/μL**。

◆ 产品组成 (48 测试)

092272M	
试剂	含量
A-GCC-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-GCC-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（0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL）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《GB/T 40453-2021 柑橘黑斑病菌检疫鉴定方法》等标准进行样品处理，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《GB/T 40453-2021 柑橘黑斑病菌检疫鉴定方法》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 μL 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-GCC-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
去污染	50°C	5 分钟	1 个循环	—
预变性	95°C	5 分钟	1 个循环	—
扩增	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

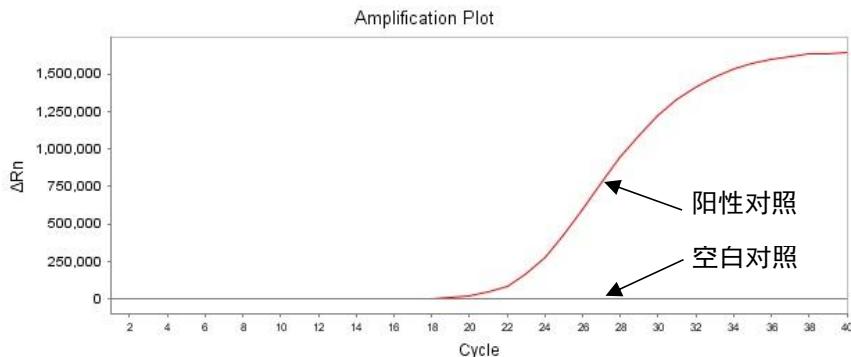
在阳性对照、空白对照正常的情况下：

疑似分离物：出现典型扩增曲线判定为阳性；无典型扩增曲线判定为阴性。

样品检测：出现典型扩增曲线，且 $C_t \leq 35$ ，判定为阳性； $35 \leq C_t \leq 40$ ，增加 DNA 用量 2~10 倍再次测试，出现典型扩增曲线，且 $C_t \leq 35$ ，判定为阳性；其余情况判定为阴性。

样品实时荧光 PCR 检测结果为阳性，对疑似组织进行样品分离；结果为阴性，不再对疑似组织进行样品分离。

★ 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