

## 旋达®R1 植物病害检测系列

烟草环斑病毒 (TRSV) RNA 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** 植物病害检测系列可针对植物及其加工产品等样品中病原的特异核酸片段进行扩增，通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于对烟草环斑病毒 (TRSV) RNA 的检测，**检出限为 10<sup>1</sup>copies/μL 基因组 RNA**。

### ◆ 产品组成 (48 测试)

092042M	
试剂	含量
A-TRSV-P	1000μL×1 支
NG-P	100μL×2 支
PG-TRSV-P	100μL×1 支

### ◆ 适用仪器

ABI 7500、Gentier 32R、Gentier 48E/48R、CFX96、Mx3005P、LineGene9600 等实时荧光 PCR 仪。

### ◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5mL 或 2.0mL 离心管；②移液器 (0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL) 及配套灭菌吸头；③灭菌 PCR 管或八联管；④涡旋混匀器；⑤离心机；⑥冰盒；⑦电子天平；⑧金属浴；⑨均质机、搅拌机或研钵等研磨器具。

### ◆ 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：试剂准备区。
  - 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，并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
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。
7. 本试剂盒仅供研究使用，不用于临床诊断。

### ◆ 样品处理

参照《GB/T 28081-2011 烟草环斑病毒检疫鉴定方法》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. 试剂配制 (试剂准备区，放置于冰盒中进行)

若有 N 个待检样品，则参照下表，按照 N+2 个数量计算反应液用量 (N 个待检样品+1 个阴性对照+1 个阳性对照)，涡旋混匀，离心 30 秒，分装于 PCR 管中。

试剂	使用量
A-TRSV-P	20×(N+2)μL
反应液总体积	20×(N+2)μL

2. 模板制备 (样本制备区)

建议使用配套病毒基因组 DNA 提取试剂盒，具体过程详见产品说明书。

### 3. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒上进行）

在步骤 1 中已含有反应液的 PCR 管中加入 5 $\mu$ L 模板，顺序为 NG-P、待测样品模板、PG-TRSV-P。盖好配套的 PCR 管盖后，涡旋混匀 30 秒，离心 1 分钟，立即进行 PCR 扩增反应。

### 4. 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。

### 5. 基线和阈值设定

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

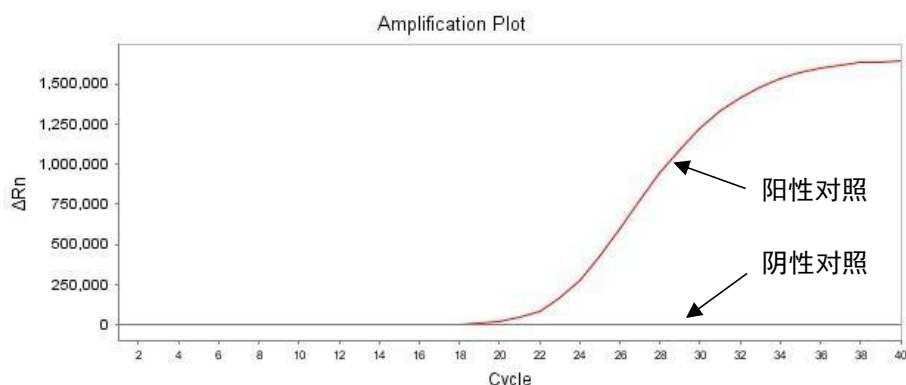
## ◆ 结果判定

检测样品 Ct 值 $\geq$ 40 或无 Ct 值时，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，判定该样品未检出烟草环斑病毒（TRSV）<sup>RNA</sup> 或含量低于检出限；

检测样品 Ct 值 $\leq$ 35 时，曲线呈“S”型扩增曲线，判定该样品检出烟草环斑病毒（TRSV）<sup>RNA</sup>；

检测样品 35<Ct 值<40 时，应调整模板浓度，重做实时荧光 PCR；结果按照同上判定；Ct 值仍然在 35~40 之间，且分离曲线明显的，判定该样品检出烟草环斑病毒（TRSV）<sup>RNA</sup>。

★ 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：广州市黄埔区国际生物岛螺旋四路 1 号办公区第二层 215 单元