

# 红三叶草斑点病毒 PCR 试剂盒

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

咨询 QQ : [2881498726](https://www.qq.com)

订购热线 : [021 - 54720761](tel:021-54720761)

咨询电话 : [13166274233](tel:13166274233)(微信同号)

## 产品及特点:

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，只扩增红三叶草斑点病毒，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。

## 规格及成分:

| 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 | 红三叶草斑点病毒 PCR 引物混合液                           | 100 $\mu$ L (白盖) |
| 试剂四 | 红三叶草斑点病毒 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 $^{\circ}$ C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 10 $\mu$ L 红三叶草斑点病毒 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(40  $\mu$ L 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 20 $\mu$ L | 20 $\mu$ L | 20 $\mu$ L |
| 红三叶草斑点病毒 PCR 引物混合液                        | 各 2 $\mu$ L  | 2 $\mu$ L  | 2 $\mu$ L  |
| N+2 个样品 DNA 模板                            | 各 18 $\mu$ L | --         | --         |
| PCR 阴性对照 (水)                              | --           | 18 $\mu$ L | --         |
| PCR 阳性对照 (红三叶草斑点病毒<br>PCR 阳性对照 1000 倍稀释液) | --           | --         | 18 $\mu$ L |

4. 按下表设置 PCR 反应:

| 过程  | 温度              | 时间    |
|-----|-----------------|-------|
| 预变性 | 95 $^{\circ}$ 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  $\mu\text{L}$  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。

**所有产品仅供科研使用, 不得用于其他用途。**