



中华人民共和国国家标准

GB/T 36846—2018

马铃薯 M 病毒检疫鉴定方法

Detection and identification of *Potato virus M*

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国黑龙江出入境检验检疫局、中华人民共和国中山出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国山东出入境检验检疫局、浙江大学。

本标准主要起草人:刘忠梅、刘洪义、马微、陈定虎、栾凤侠、张永江、封立平、李明福、吴建祥、李桂芬、魏梅生、杨立群。

马铃薯 M 病毒检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了马铃薯 M 病毒检疫鉴定的血清学和分子生物学检测方法。

本标准适用于可能带有马铃薯 M 病毒的马铃薯植株、繁殖材料及其他寄主植物的检疫鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 7331 马铃薯种薯产地检疫规程

SN/T 2122 进出境植物及植物产品检疫抽样方法

3 马铃薯 M 病毒基本信息

中文名:马铃薯 M 病毒

学名:*Potato virus M*

缩写:PVM

异名:Kartoffel-Rollmosaik virus, Ksrtoffel-K-virus, Potato interveinal mosaic virus, Potato leaf rolling mosaic virus, Potato M carlavirus, potato paracrinkle virus, Potato virus E, Solanum virus 11, Solanum virus 7

分类地位:乙型线状病毒科(*Betaflexiviridae*),香石竹潜隐病毒属(*Carlavirus*)。

传播途径:该病毒可通过机械接种传播和蚜虫的非持久性传播,也可通过种薯、商品薯、组培苗等繁殖材料远距离传播。

马铃薯 M 病毒的其他信息参见附录 A。

4 方法原理

PVM 的免疫原性和基因组特征是该病毒检疫鉴定的依据。依据 PVM 免疫原性建立酶联免疫吸附测定(ELISA)方法和斑点酶联免疫吸附测定(dot-ELISA)方法;依据 PVM 的基因组特征建立反转录 PCR(RT-PCR)和反转录环介导等温扩增(RT-LAMP)检测方法。

5 仪器设备、用具及试剂

5.1 仪器设备

酶标仪、PCR 仪、电泳仪、生物安全柜、小型离心机、台式冷冻离心机、恒温水浴锅、pH 计、凝胶成像系统、制冰机、超净工作台、高压灭菌锅、低温冰箱、电子天平(0.001 g)、涡旋振荡器、恒温培养箱等。

5.2 用具

可调移液器(2.5 μ L、10 μ L、20 μ L、100 μ L、1 000 μ L)、吸头、离心管和研钵等。

5.3 试剂

除有特殊说明外,所有实验用试剂均为分析纯或生化试剂。

双抗体夹心酶联免疫吸附测定(DAS-ELISA)所需试剂见附录 B,RT-PCR 检测所需试剂见附录 C,RT-LAMP 检测所需试剂见附录 D,dot-ELISA 检测所需试剂见附录 E。

6 抽样与样品制备

6.1 抽样

马铃薯贸易商品、科研用薯材料、国际间种质交流材料及其他寄主植物等现场抽样按照 SN/T 2122 的规定执行,田间调查采样按照 GB 7331 的规定执行。

6.2 马铃薯组培苗、微型薯、块茎等样品的制备

将马铃薯组培苗、微型薯、块茎播于非土介质或灭菌土中,于 25℃左右生长并进行症状观察。待长出 3 片~4 片真叶后将表现症状的植株单独编号,未表现症状的植株分组(10 株为 1 组)并编号。表现可疑症状的繁殖材料,可直接用于检测,必要时再进行栽培生长实验。

6.3 茄科等寄主植物种子样品的制备

将种子(重点挑取畸形、不成熟的种子)播于灭菌土中,于 25℃左右生长并进行症状观察。待长出 3 片~4 片真叶后将表现症状的植株单独编号,未表现症状的植株分组(10 株为 1 组)并编号。

7 检疫鉴定方法

7.1 DAS-ELISA 检测

见附录 B。如果使用试剂盒,应按照说明书进行操作。

7.2 RT-PCR 检测

见附录 C。

7.3 RT-LAMP 检测

见附录 D。

7.4 dot-ELISA 检测

见附录 E。

8 结果判定

样品检测时,可采用 DAS-ELISA、dot-ELISA 或 RT-LAMP 检测进行初步筛检。检测流程及结果判定按下述原则进行:

- 经过血清学检测(7.1、7.4 任选其一),若检测结果为阳性,采用 RT-PCR 方法(7.2)进行验证,验证结果为阳性,则判定样品检出 PVM;
- 经过分子检测(7.3),若检测结果为阳性,采用血清学检测(7.1、7.4 任选一种)进行验证,验证

结果为阳性,则判定样品检出 PVM;
——经过血清学检测(7.1、7.4 任选其一)或分子检测(7.3),若检测结果为阴性,则判定样品未检出 PVM。

9 样品保存与结果记录

9.1 样品保存

结果判定为阳性的样品应妥善保存,种子样品可保存在室温干燥环境中;叶片样品保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,并作好标记和登记工作,以备复验、谈判和仲裁。保存期限至少 1 年,保存期满后,应经灭活处理。

9.2 结果记录

完整的实验记录要包括:样品的来源、种类、采集时间、实验检测时间、地点、方法和结果,并有实验人员的签字;酶联免疫吸附方法应有酶联反应的原始数据,dot-ELISA 检测应附显色图片,RT-LAMP 检测应附结果图片,RT-PCR 检测应有电泳结果图片和测序结果。

附 录 A
(资料性附录)
马铃薯 M 病毒相关资料

A.1 寄主范围

马铃薯 M 病毒的自然寄主范围较窄,主要侵染茄科植物。已知的植物有马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)、迪勃纳氏烟草(又名德氏烟)(*Nicotiana debneyi*)、千日红(*Gomphrena globosa*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、洋金花(*Datura metel*)、人参果(*Solanum muricatum*)等。

A.2 地理分布

美国、加拿大、墨西哥、阿根廷、巴西、智利、英国、德国、法国、荷兰、爱沙尼亚、奥地利、白俄罗斯、保加利亚、波兰、丹麦、俄罗斯、芬兰、荷兰、捷克、斯洛伐克、拉脱维亚、罗马尼亚、前南斯拉夫、瑞典、匈牙利、意大利、埃及、马拉维、巴基斯坦、哈萨克斯坦、韩国、日本、塞浦路斯、印度、印度尼西亚、中国及大洋洲等国家和地区。

A.3 危害症状

依 PVM 株系和品种不同,感病症状有一定差异。其强株系侵染后,马铃薯幼苗期小叶表面带有油脂状光泽,同时小叶迅速开始向下卷曲,叶背出现条斑坏死,随着马铃薯生长发育,下部叶片出现不规则的坏死斑点,并很快黄化至干枯,枯叶下垂现象似马铃薯 Y 病毒(PVY)的重垂叶坏死症,病株严重萎缩和矮化,其株高只相当于健株的 1/3 高度,叶背向卷曲似马铃薯卷叶病毒(PLRV)。PVM 的弱毒株系侵染马铃薯后,常引起病株小叶脉间花叶,小叶尖端稍扭曲,叶缘呈波状,病株顶叶有些卷叶或叶面表现无光泽,如图 A.1 所示。



注: 引自 <http://www.eestikartul.ee/kasvatus/kartulihaigused>。

图 A.1 PVM 侵染马铃薯植株的症状

A.4 基因组

病毒粒体为病毒粒体微曲线状,大小约 650 nm×12 nm,正义单链 RNA,全长约 8.5 kb,含 6 个开放阅读框(ORF),分别编码复制酶蛋白、运动蛋白三基因框、外壳蛋白及富含半胱氨酸的蛋白。目前 GenBank 已登录有 PVM 全基因组序列。

附 录 B
(规范性附录)
DAS-ELISA 检测

B.1 试材**B.1.1 酶联板**

使用质量有保证厂商生产的酶联板。

B.1.2 包被抗体

特异性的 PVM 抗体。

B.1.3 酶标抗体

碱性磷酸酯酶标记的 PVM 抗体。

B.1.4 底物

对硝基苯磷酸二钠(pNPP)。

B.1.5 PBST 缓冲液(洗涤缓冲液 pH 7.4)

NaCl	8 g
Na ₂ HPO ₄	1.15 g
KH ₂ PO ₄	0.2 g
KCl	0.2 g
吐温-20(Tween-20)	0.5 mL
NaN ₃	0.2 g
蒸馏水定容至 1 L, 4 °C 储存。	

B.1.6 样品抽提缓冲液(pH 7.4)

PBST	1 L
Na ₂ SO ₃	1.3 g
PVP (MW24 000~40 000)	20 g
NaN ₃	0.2 g
4 °C 储存。	

B.1.7 包被缓冲液(pH 9.6)

Na ₂ CO ₃	1.59 g
NaHCO ₃	2.93 g
NaN ₃	0.2 g
蒸馏水定容至 1 L, 4 °C 储存。	

B.1.8 酶标抗体稀释缓冲液(pH 7.4)

PBST	1 L
牛血清白蛋白(BSA)或脱脂奶粉	2 g
PVP(MW24 000~40 000)	20 g
NaN ₃	0.2 g
4 ℃储存。	

B.1.9 底物(pNPP)缓冲液(pH 9.8)

MgCl ₂	0.1 g
NaN ₃	0.2 g
二乙醇胺	97 mL
溶于 800 mL 蒸馏水中,用浓 HCl 调 pH 值至 9.8,蒸馏水定容至 1 L,4 ℃储存。	

B.2 操作步骤

B.2.1 包被抗体

用包被缓冲液将抗体按说明稀释,加入酶联板的孔中,100 μL/孔,酶联板加盖或用保鲜膜包好,37 ℃ 孵育 2 h 或 4 ℃ 冰箱孵育过夜,清空孔中溶液,PBST 洗涤 3 次,每次 3 min。

B.2.2 样品制备

待测样品按 1 : 10(质量 : 体积)加入抽提缓冲液,用研钵研磨成浆,2 000 g 离心 10 min,上清液即为制备好的检测样品。阴性对照、阳性对照作相应的处理或按照说明书进行。

B.2.3 加样

加入制备好的检测样品、缓冲溶液、阴性对照、阳性对照,100 μL/孔,每一样品设 2 个重复,加盖后于 37 ℃ 孵育 2 h~4 h 或 4 ℃ 冰箱孵育过夜,将酶联板孔中溶液控干,用 PBST 洗涤 3 次,每次 3 min。

B.2.4 加酶标抗体

用酶标抗体稀释缓冲液按说明将酶标抗体稀释至工作浓度,并加入到酶联板中,100 μL/孔,加盖,37 ℃ 孵育 4 h,将酶联板孔中溶液控干,PBST 洗涤 3 次,每次 3 min。

B.2.5 加底物

将底物 pNPP 加入到底物缓冲液中使终浓度为 1 mg/mL(现配现用),按 100 μL/孔,加入到酶联板中,室温避光孵育。

B.2.6 读数

在不同的时间内如 30 min、1 h、2 h 或更长时间,用酶联仪在 405 nm 处读 OD 值并记录。

B.3 结果判断

B.3.1 对照孔的 OD₄₀₅ 值(缓冲溶液孔、阴性对照及阳性对照孔),应在质量控制范围内,即:缓冲液孔和

阴性对照孔的 OD_{405} 值 < 0.15 , 当阴性对照孔的 OD_{405} 值 < 0.05 时, 按 0.05 计算; 阳性对照 OD_{405} 值/阴性对照 OD_{405} 值 > 5 且 < 10 ; 同一样品的重复性基本一致。

B.3.2 若满足 B.3.1 质量要求, 结果原则上可判断如下:

- 样品 OD_{405} 值/阴性对照 OD_{405} 值 ≥ 2 , 判为阳性;
- 样品 OD_{405} 值/阴性对照 OD_{405} 值 < 2 , 判为阴性。

B.3.3 若不满足 B.3.1 质量要求, 则不能进行结果判断。

附 录 C
(规范性附录)
RT-PCR 检测

C.1 试剂

C.1.1 RNA 提取试剂

Trizol、三氯甲烷、异丙醇、75%乙醇。

C.1.2 反转录试剂

200 U/ μ L M-MLV 反转录酶、5 $\times$ 反转录反应缓冲液、40 U/ μ L RNA 酶抑制剂、10 mmol/L dNTPs。

C.1.3 PCR 试剂

10 $\times$ PCR 缓冲液、25 mmol/L $MgCl_2$ 、10 mmol/L dNTPs、5 U/ μ L *Taq* DNA 聚合酶。

C.1.4 电泳试剂

C.1.4.1 50 $\times$ TAE

Tris	242 g
冰醋酸	57.1 mL
$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	37.2 g
加去离子水定容至 1 L,用时加水稀释至 1 $\times$ TAE。	

C.1.4.2 6 $\times$ 加样缓冲液

0.25% 溴酚蓝
0.4 g/mL 蔗糖水溶液

C.2 实验步骤

C.2.1 总 RNA 提取

取 0.1 g 待测样品,用液氮研磨成粉末状,加入 1 mL Trizol,待溶解后继续研磨至混匀,移入 1.5 mL 离心管中,室温静置 5 min;4 $^{\circ}C$,12 000 *g* 离心 10 min 以除去不溶成分,将上清液转入一新的 1.5 mL 离心管中;加入 200 μ L 三氯甲烷,剧烈振荡 15 s,室温静置 2 min;4 $^{\circ}C$,12 000 *g* 离心 10 min,小心吸取上层水相到新离心管中;加入等体积异丙醇,颠倒混匀,室温放置 10 min;4 $^{\circ}C$,12 000 *g* 离心 10 min,弃上清液;加入 1 mL 75%冷乙醇洗涤沉淀,4 $^{\circ}C$,12 000 *g* 离心 1 min,弃乙醇,充分干燥沉淀;加入 20 μ L DEPC 处理的超纯水(DEPC- H_2O),溶解沉淀,存于-80 $^{\circ}C$ 备用。

也可按照商品 RNA 提取试剂盒进行操作。

C.2.2 引物序列

引物序列见表 C.1。

表 C.1 RT-PCR 检测的引物序列

引物名称	引物序列
PVM-RT-F	5'-CGCATATATGTGAACCTGGA-3'
PVM-RT-F	5'-TCTTTGTGCGTATTGTGAGC-3'

扩增片断长度为 416 bp。

C.2.3 反转录合成 cDNA

反转录体系见表 C.2。

表 C.2 反转录体系

试剂名称	加样体积/ μL
RNA	2
20 $\mu\text{mol/L}$ PVM-RT-R	1
在 70 $^{\circ}\text{C}$ 温育 5 min, 然后立即置于冰上; 放置 5 min	
5 $\times$ 反转录反应缓冲液	4
10 mmol/L dNTPs	1
40 U/ μL RNA 酶抑制剂	0.5
200 U/ μL M-MLV 反转录酶	1
DEPC- H_2O 补足至	20

反应参数: 42 $^{\circ}\text{C}$, 45 min; 95 $^{\circ}\text{C}$, 10 min。合成的 cDNA 置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

C.2.4 PCR 扩增

PCR 反应以 cDNA 为模板进行扩增, 每个样品设 2 个平行处理。以健康植物材料为阴性对照, 以 ddH₂O 为空白对照。PCR 反应体系见表 C.3。也可采用 RT-PCR 一步法试剂盒, 操作步骤按使用说明进行。

表 C.3 PCR 反应体系

试剂名称	加样体积/ μL
10 $\times$ PCR 反应缓冲液	2.5
25 mmol/L MgCl ₂ (反应缓冲液中已含有的可不加入)	2.5
10 mmol/L dNTPs	1
20 $\mu\text{mol/L}$ PVM-RT-F	1
20 $\mu\text{mol/L}$ PVM-RT-R	1
5 U/ μL <i>Taq</i> DNA 聚合酶	0.2
cDNA 模板	2
ddH ₂ O 补足至	25

PCR 反应条件:94 ℃ 3 min;94 ℃ 30 s、57 ℃ 30 s、72 ℃ 40 s,35 个循环;72 ℃ 10 min。

C.2.5 琼脂糖凝胶电泳检测

将制胶板同制好的琼脂糖凝胶一放入水平电泳槽,取 5 μL 扩增反应物加 1 μL 的 6 $\times$ 溴酚蓝上样缓冲液混匀,以及 5 μL DNA Marker 作为分子量标准物分别点入样孔内。电泳缓冲液 1 $\times$ TAE 适量,100 V,电泳 30 min。电泳结束后,放入 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 溴化乙锭(或其替代物)溶液中染色 10 min,将整个凝胶置于凝胶成像系统上拍照,记录结果。

C.2.6 PCR 产物测序

电泳后,将在 416 bp 左右处有特异条带的 PCR 产物进行序列测定。

C.3 结果判定

C.3.1 阳性对照在 416 bp 左右处有条带,阴性对照、空白对照和待测样品在该处无特异性条带,则可判定待测样品为 PVM 阴性。

C.3.2 阳性对照在 416 bp 左右处有条带,阴性对照和空白对照在该处无特异性条带,待测样品出现和阳性样品一致的条带,测定序列结果经比对为 PVM 的,序列相似性 $>95\%$,可判定待测样品为 PVM 阳性。

附 录 D
(规范性附录)
RT-LAMP 检测

D.1 试剂

D.1.1 一步法 RT-LAMP 反应试剂盒。

D.1.2 LAMP 荧光目视检测试剂盒。

D.2 实验步骤**D.2.1 总 RNA 提取**

总 RNA 提取见 C.2.1。

D.2.2 引物合成

引物序列见表 D.1。

表 D.1 RT-LAMP 引物序列

引物名称	序列(5'-3')
PVM-F3	5'-TTCAGGCCGTGCTGTTCT-3'
PVM-B3	5'-CAGCATGTGGTTCCAAGTCA-3'
PVM- FIP	5'- GCACCCCTAGGCCACTCAAA-GGATGCAAGCAGCTCAGT -3'
PVM- BIP	5'- GGACGCTGTGCTTGCTGTGA-CAGGCGCATACAACCTACA -3'

D.2.3 RT-LAMP 反应**D.2.3.1 RT-LAMP 反应体系**

RT-LAMP 反应体系以 RNA 为模板,以健康植物材料为阴性对照,以 ddH₂O 为空白对照,以感染 PVM 的植物材料为阳性对照。RT-LAMP 反应体系见表 D.2。整个溶液的配制在冰上进行,也可采用其他等效 LAMP 试剂。RT-LAMP 反应条件:65 ℃ 恒温扩增 60 min,80 ℃ 5 min。

表 D.2 RT-LAMP 反应体系

试剂名称	加样量/ μ L
2×反应缓冲液(RM)	12.5
10 μ mol/L PVM- FIP	0.5
10 μ mol/L PVM- BIP	0.5
20 μ mol/L PVM-F3	2
20 μ mol/L PVM-B3	2

表 D.2 (续)

试剂名称	加样量/ μL
荧光检测试剂(FD)	1
酶混合物(EM)	1
总 RNA	5
DEPC-H ₂ O 补足至	25

D.2.3.2 质量控制

基本原则：实验室中设置的各种对照 LAMP 检测结果应符合以下情况：

- 空白对照：反应管中液体呈橙色；
- 阴性对照：反应管中液体呈橙色；
- 阳性对照：反应管中液体呈绿色。

任一种对照如果出现非下述正常结果，应重做实验。

D.3 结果判定

- D.3.1 待检样品反应管中液体呈现橙色，同时各种实验对照结果正常，可判断该样品检测结果为阴性。
- D.3.2 待检样品反应管中液体呈现绿色，同时各种实验对照结果正常，可判断该样品检测结果为阳性。

附 录 E

(规范性附录)

dot-ELISA 检测

E.1 材料和试剂

- E.1.1 硝酸纤维素膜(NC膜),购自质量保证的厂商。
- E.1.2 马铃薯 M 病毒特异性鼠源抗体。
- E.1.3 碱性磷酸酯酶(AP)标记的羊抗鼠酶标二抗。
- E.1.4 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4):NaCl 8 g, KCl 0.2 g, KH_2PO_4 0.2 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3 g,加去离子水 950 mL 溶解后调 pH 至 7.4,定容至 1 000 mL。
- E.1.5 PBST 洗涤液:含 0.05%吐温-20 的 0.01 mol/L PBS。
- E.1.6 脱脂奶粉。
- E.1.7 封闭液:含 5%脱脂奶粉的 PBST。
- E.1.8 抗体稀释液:即封闭液。
- E.1.9 硝基蓝四氮唑(NBT)和 5-溴-4-氯吲哚磷酸盐(BCIP)底物储备液:NBT 溶于 70%二甲基甲酰胺中,NBT 储备液配成 50 mg/mL 浓度,BCIP 溶于 100%二甲基甲酰胺中,BCIP 储备液配成 50 mg/mL 浓度,2 种底物储备液分别装于瓶中-20℃保存。
- E.1.10 底物显色缓冲液:Tris 12.14 g,NaCl 5.84 g, MgCl_2 0.475 g,浓 HCl 调 pH 至 9.5,加去离子水定容至 1 000 mL。
- E.1.11 底物显色液:10 mL 的底物缓冲液中加入 66 μL NBT 储备液和 33 μL BCIP 储备液。

E.2 实验步骤

- E.2.1 制样:取病毒症状明显的或没有症状的植物叶片称重后放到研钵中,按 1:20(质量:体积)的比例加入 0.01 mol/L PBS 后研磨、匀浆 2 min~3 min;匀浆液移至 1.5 mL 离心管中,5 000 r/min 离心 3 min,或静置 5 min;阳性对照为感染马铃薯 M 病毒的病叶,阴性对照为健康的马铃薯叶片。
- E.2.2 点样:用镊子取一张 NC 膜放至干净的培养皿内,用移液枪取 3 μL 植物叶片提取液上清轻点到 NC 膜上,每取一个样换一个枪头。
- E.2.3 膜干燥:点样完成后膜在室温下干燥,直至看不到点样水印为止,约 10 min。
- E.2.4 封闭:将 NC 膜浸入到含 5%脱脂奶粉的 PBST 封闭液中 37℃封闭 30 min。
- E.2.5 一抗孵育:在一个平皿中用抗体稀释液将马铃薯 M 病毒特异性鼠源抗体按试剂说明稀释,用镊子将 NC 膜放入上述抗体稀释液中,室温水平摇床上缓慢摇动孵育 60 min。
- E.2.6 洗涤:倒去上述抗体稀释液后加入 PBST 洗涤液,在水平摇床上缓慢摇动洗涤 NC 膜 3 min;重复洗涤 2 次。
- E.2.7 酶标二抗孵育:用抗体稀释液将碱性磷酸酯酶(AP)标记的羊抗鼠酶标二抗按试剂说明稀释,用镊子将 NC 膜放入上述酶标二抗稀释液中,室温水平摇床上缓慢摇动孵育 60 min。
- E.2.8 洗涤:倒去上述酶标二抗溶液后加入 PBST 洗涤液,在水平摇床上缓慢摇动洗涤 NC 膜 3 min;PBST 重复洗涤 3 次;最后用 PBS 洗涤 1 次以去除膜表面的吐温-20。
- E.2.9 显色底物液配制:在一个干净的平皿中加入 10 mL 底物缓冲液、66 μL NBT 和 33 μL BCIP 底

物储备液,晃动混匀。

E.2.10 显色及终止:将洗好的 NC 膜用滤纸吸干后放入上述显色底物液的培养皿中避光显色,待阳性对照显色明显,而阴性没有任何显色时,约显色 10 min~20 min 时终止反应,即膜在自来水中漂洗一下洗去底物。

E.3 结果判断

肉眼观察判断结果,即点样点显色呈紫色的样品为阳性,点样点为绿色或无色的样品为阴性,并拍照记录。

E.4 注意事项

E.4.1 NC 膜位于 2 张保护纸中间,不要用手直接触摸膜,用镊子和戴一次性 PE 手套取膜。

E.4.2 NC 膜上滴加检测样品的一面为正面,整个实验过程中应朝上。

E.4.3 抗体在使用前 10 min 之内稀释。

E.4.4 底物显色液要现配现用。
