

病毒性神经坏死病病毒 RT-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\(微信同号\)](https://www.weixin.com)

产品及特点:

病毒性神经坏死病病毒(Viral Nervous Necrosis Virus, VNNV)是一种 RNA 病毒, 会引起病毒性神经坏死病, 患病鱼漂游于水面, 并伴随有游泳不协调、螺旋状游泳等不同的神经症状, 部分鱼眼盲, 体弱, 不摄食, 体褪色或发黑, 但未见出血或糜烂。该疾病流行于除美洲和非洲外几乎世界所有地区的海水鱼类, 对仔鱼和幼鱼危害很大, 严重者在一周内死亡率可达 100%, 且近年受感染的鱼类种类和受危害程度迅速增加, 因此快速灵敏诊断具有重要意义。为此本公司开发了本产品, 可用于在科研领域快速定量检测病毒性神经坏死病病毒。它具有下列特点。

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. 根据病毒性神经坏死病病毒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	病毒性神经坏死病病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂五	病毒性神经坏死病病毒 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 病毒性神经坏死病病毒 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(20 μ L 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 \times 双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 μ L	4 μ L	4 μ L
病毒性神经坏死病病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μ L	2 μ L	2 μ L
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 μ L	--	--
超纯水	--	12.5 μ L	--
病毒性神经坏死病病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5 μ L
MMLV-Taq Mix	1.5 μ L	1.5 μ L	1.5 μ L

4. 上机进行 RT-PCR, RT-PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
逆转录	42 $^{\circ}$ C	30 min
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95 $^{\circ}$ C	30 sec
	58 $^{\circ}$ C	30 sec
	72 $^{\circ}$ C	20 sec
最后延伸	72 $^{\circ}$ 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，若无则为阴性。

所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。