



传染性脾脏坏死病病毒 RT-PCR 试剂盒

产品及特点:

传染性脾肾坏死病病毒(Infectious Spleen and Kidney Necrosis Virus, ISKNV) 会引起传染性脾肾坏死病, 是以脾、肾坏死为主要病理特征的一种病毒性疾病。病鱼嘴张大, 呼吸加快, 食欲下降, 鱼体变黑, 有时有抽筋样颤动; 头部充血, 口四周和眼出血; 脾脏肿大、糜烂和充血, 呈紫黑色; 肾脏肿大、充血和溃烂; 肝脏肿大, 有缺血状、土黄色或有淤血点等症状; 常见有腹水, 肠内有时充满黄色粘稠物, 胆囊肿大; 鳃贫血, 发白, 伴有寄生虫或细菌感染出现出血、腐烂等现象。传染性脾肾坏死病主要流行于我国南方淡水养殖的鳊中, 具有很高的死亡率, 对鳊养殖业造成很大的威胁, 严重危害我国鳊养殖业发展, 因此传染性脾肾坏死病病毒的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用, 为此本公司开发了简单快捷的传染性脾肾坏死病病毒染料法荧光定量 PCR 检测试剂盒,

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. 根据传染性脾脏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 \times 双酶一管式 RT-PCR Buffer	200 μ L (橘黄盖)



试剂二	MMLV-Taq Mix	75 μ L (红盖)
试剂三	超纯水	1 mL (亮黄盖)
试剂四	传染性胰脏坏死病病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μ L (白盖)
试剂五	传染性胰脏坏死病病毒 RT-PCR 阳性对照 (1×10^8 / μ L)	50 μ L (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°C 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 10 μ L 传染性胰脏坏死病病毒 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×双酶一管式 RT-PCR Buffer	各 4 μL	4 μL	4 μL
传染性胰脏坏死病病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 μL	2μL	2μL
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5μL	--	--
超纯水	--	12.5μL	--
传染性胰脏坏死病病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5μL
MMLV-Taq Mix	1.5 μL	1.5 μL	1.5 μL

4. 上机进行 RT-PCR, RT-PCR 反应参数为:

过程	温度	时间
逆转录	42°C	30 min
预变性	95°C	5 min
PCR 反应 35 个循环	95°C	30 sec
	58°C	30 sec
	72°C	20 sec
最后延伸	72°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。

上海纪宁实业有限公司(www.shjning.com)所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。