



传染性造血器官坏死病病毒 RT-PCR 试剂盒

产品及特点:

传染性造血器官坏死病病毒(Infectious Hematopoietic Necrosis Virus,IHNV)是一种 RNA 病毒,多传染鱼类,引起鱼传染性造血器官坏死病,是一种毒力很强的弹状病毒所引起的急性、全身性的严重传染病,常发生于鳟鱼和太平洋大马哈鱼的鱼苗和种鱼。鱼传染性造血器官坏死病爆发时,首先出现稚鱼和幼鱼的死亡率突然升高。受侵害的鱼通常出现昏睡症状,不愿活动和避开水流,但有的鱼表现狂暴乱窜、打转等反常现象。患病鱼眼球突出且变黑,腹部膨胀,肛门处拖着不透明或棕褐色的假管型粘液粪便是较为典型的特征,但并非该病所独有。鱼鳃苍白,鳍基部出血,该病的发生会给养殖业造成较大的经济损失,因此传染性造血器官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。为此本公司开发了本产品,可用于在科研领域快速定量检测传染性造血器官坏死病病毒。

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. 根据传染性造血器官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—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	传染性造血器官坏死病病毒 RT-PCR 引物混合液	100 μL (白盖)
试剂五	传染性造血器官坏死病病毒 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 传染性造血器官坏死病病毒 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(20μL 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
传染性造血器官坏死病病毒 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	--
传染性造血器官坏死病病毒 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。