



# 病毒性神经坏死病病毒 RT-PCR 试剂盒

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

官方 QQ：2881498548

官方网址：[www.tw-reagent.com](http://www.tw-reagent.com)

监督电话：021-54845833

## 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病毒病，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。

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 $\mu$ 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 $\mu$ L (橘黄盖)
试剂二	MMLV-Taq Mix	75 $\mu$ L (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 $\mu$ L (白盖)
试剂五	病毒性神经坏死病病毒 RT-PCR 阳性对照 (1 $\times$ 10E8/ $\mu$ L)	50 $\mu$ 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℃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(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—管式 RT-PCR Buffer	各 4 μL	4 μL	4 μL
病毒性神经坏死病病毒 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	--
病毒性神经坏死病病毒 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℃	30 min
预变性	95℃	5 min
PCR 反应 35 个循环	95℃	30 sec
	58℃	30 sec
	72℃	20 sec
最后延伸	72℃	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。



#### **四、特别提示：**

本公司的所有产品，仅可用于科研实验，严禁用于临床医疗及其他非科研用途！