



# 牛流行热病毒 RT-PCR 试剂盒

## 产品及特点：

牛流行热病毒 (Bovine Ephemeral Fever Virus, BEFV) 会引起牛流行热，是一种急性热性传染病。其特征为突然高热，呼吸促迫，流泪和消化器官的严重卡他炎症和运动障碍。感染该病的大部分病牛经 2-3 日即恢复正常，故又称三日热或暂时热。该病病势迅猛，但多为良性经过。过去曾将该病误认为是流行性感冒。该病能引起牛大群发病，明显降低乳牛的产乳量。该病毒会给养殖业带来较大的经济损失，因此牛流行热病毒的快速准确鉴定对该病的预防和检疫有着重要作用。本产品是根据 PCR 原理开发的牛流行热病毒检测的试剂盒。

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. 根据牛流行热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×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	牛流行热病毒 RT-PCR 引物混合液	100 $\mu$ L (白盖)
试剂五	牛流行热病毒 RT-PCR 阳性对照 ( $1 \times 10^8$ / $\mu$ 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°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：

- 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 $\mu$ L 牛流行热病毒 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。
- 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 $\mu$ L 体系)：

- 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 $\mu$ L	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L
牛流行热病毒 RT-PCR 引物混合液	各 2 $\mu$ L	2 $\mu$ L	2 $\mu$ L
N+2 个制备的 RNA 样品	各 12.5 $\mu$ L	--	--
超纯水	--	12.5 $\mu$ L	--
牛流行热病毒 RT-PCR 阳性对照的 1000 倍稀释液	--	--	12.5 $\mu$ L
MMLV-Taq Mix	1.5 $\mu$ L	1.5 $\mu$ L	1.5 $\mu$ 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°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，如果无则为阴性。

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



上海纪宁生物

[www.shjning.com](http://www.shjning.com)

仅供科研使用