

数据库 'yykxjz_journal' 的日志已满。请备份该数据库的事务日志以释放一些日志空间。a

文章摘要

赵玉然, 谭乐义, 刘荏, 赵巍, 梁成珠, 史秀杰, 徐彪, 朱来华, 何俊强, 岳志芹. 真鲷虹彩病毒实时定量PCR检测方法的建立与应用. 渔业科学进展, 2011, 32 (2): 111-116

真鲷虹彩病毒实时定量PCR检测方法的建立与应用

Development and application of a real-time PCR assay for the detection of red-sea bream iridovirus

投稿时间: 2010-05-06 最后修改时间: 2010-06-29

DOI:

中文关键词: [真鲷虹彩病毒](#) [实时定量PCR](#) [衣壳蛋白基因](#) [SYBR Green I](#)

英文关键词: [sea bream iridovirus](#) [Real-time quantitative PCR](#) [Major capsid protein gene](#) [SYBR Green I](#)

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局科研项目 (2007IK267) 和质检总局公益性项目 (10-71) 共同资助

作者	单位
赵玉然	山东出入境检验检疫局技术中心
谭乐义	山东出入境检验检疫局技术中心
刘荏	深圳出入境检验检疫局 水生动物疫病国家重点实验室
赵巍	山东出入境检验检疫局技术中心
梁成珠	山东出入境检验检疫局技术中心
史秀杰	深圳出入境检验检疫局 水生动物疫病国家重点实验室
徐彪	山东出入境检验检疫局技术中心
朱来华	山东出入境检验检疫局技术中心
何俊强	深圳出入境检验检疫局 水生动物疫病国家重点实验室
岳志芹	山东出入境检验检疫局技术中心

摘要点击次数: 162

全文下载次数: 185

中文摘要:

以真鲷虹彩病毒 (Red-sea bream iridovirus, RSIV) 主要衣壳蛋白 (Major capsid protein, MCP) 的基因保守片段为靶序列, 利用Primer Express 3.0软件设计定量PCR引物, 建立了RSIV的SYBR Green I 实时定量PCR检测方法。将RSIV MCP基因连接pMD18-T载体, 构建重组质粒, 经过梯度稀释后作为标准品, 根据标准品拷贝数 (X) 与Ct值的关系绘制了标准曲线, 为 $C_t = -3.184 \lg X + 40.270$, 相关系数 $R^2 = 0.9969$ 。熔解曲线分析表明, 定量PCR产物的 T_m 值为82.5。该方法的检测限为 2.20×10^2 拷贝/反应, 对流行性造血器官坏死病毒、淋巴囊肿病毒、蛙病毒3、甲鱼虹彩病毒都没有扩增反应, 具有特异性。利用该方法对84批海水鱼类 (石斑、大菱鲆、鲈鱼) 进行检测, 其中5批鱼样品感染RSIV, 并利用标准曲线对病毒含量进行了定量分析。

英文摘要:

A sensitive and specific SYBR Green I real-time PCR assay for the detection of red-sea bream iridovirus (RSIV) was established. The real time PCR primers were designed according to the conserved region of major capsid protein (MCP) gene by using Primer Express 3.0 software. The RSIV MCP gene was

inserted into pMD18-T vector to construct the recombinant plasmid. The resulted plasmid was serially diluted and used as the standards. The relationship between plasmid copy number (X) and Ct value was described as a standard curve: $Ct = -3.184 \lg X + 40.270$ (with an R2 value of 0.996 9). The detection limit of the assay was 220×10^2 virus copies per reaction. The assay showed specificity and could not be amplified with RSIV and epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV), lymphocystis disease virus (LCDV), frog virus 3 (FV 3), or soft-shelled turtle iridovirus (STIV). The Tm of the specific product was obtained as 82.5 °C through the melting curve analysis. This assay was applied in detecting whether the sea fish samples (stone flounder, turbot, and weever) of 84 batches were infected by RSIV. It was found that the samples of 5 batches presented positive signals, and the virus was quantified by using the obtained standard curve. The results indicate that the real-time PCR assay is specific, sensitive, fast, and accurate and it has great potential in detecting RSIV and studying the pathogenic mechanism of RSIV.

[查看全文](#) [查看/发表评论](#) [下载PDF阅读器](#)

[关闭](#)

版权所有 《渔业科学进展》编辑部

主管单位：中华人民共和国农业部 主办单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所 中国水产学会

地址：青岛市南京路106号, 黄海水产研究所《渔业科学进展》编辑部 邮编：266071

电话：0532-85833580 E-mail: yykxjz@ysfri.ac.cn

技术支持北京勤云科技发展有限公司