

权 利 要 求 书

1、检测淡水鱼类桑提库珀蛙病毒的引物探针混合物，其特征在于，其由引物组 A 和 Taqman 荧光探针 B 组成，Taqman 荧光探针 B 的 5' 端标记有荧光报告基团，3' 端标记有荧光淬灭基团。

5 2、根据权利要求 1 所述的引物探针混合物，其特征在于，所述引物组 A 包含引物 FSCR V-q102F 和引物 FSCR V-q102R；

所述的引物 FSCR V-q102F 的核苷酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示；

所述的引物 FSCR V-q102R 的核苷酸序列如 SEQ ID NO: 2 所示；

所述 Taqman 荧光探针 B 的核苷酸序列如 SEQ ID NO: 3 所示。

10 3、根据权利要求 1 所述的淡水鱼类桑提库珀蛙病毒荧光定量检测探针 B，其特征在于，所述荧光报告基团选自 6-羧基荧光素、六氯-6-甲基荧光素、VIC 荧光染料、四氯-6-羧基荧光素、羧基-X-罗丹明、6-羧基四甲基罗丹明、磺酰罗丹明、6-羧基-4'，5'-二氯-2'，7'-二甲氧基荧光素琥珀酰亚胺酯、花菁 3、花菁 3.5、花菁 5 和花菁 5.5 中的一种或几种；所述荧光淬灭基团选自 6-羧基四甲基罗丹明、4-(4-二甲基氨基苯偶氮基)苯甲酸、黑洞淬灭剂 1、黑洞淬灭剂 2 或黑洞淬灭剂 3 中的一种或几种。

5 5、一种淡水鱼类桑提库珀蛙病毒荧光定量检测试剂盒，其特征在于，包括特异性引物组 A 和 Taqman 荧光探针 B。

20 6、根据权利要求 5 所述的检测淡水鱼类桑提库珀蛙病毒荧光定量检测试剂盒，其特征在于，Taqman 荧光探针 B 核苷酸序列 5' 端标记 6-FAM，3' 端标记 BHQ1。

25 7、根据权利要求 5 所述的检测淡水鱼类桑提库珀蛙病毒荧光定量检测试剂盒，其特征在于，该试剂盒还包括独立包装的病毒裂解液、qPCR 反应液、阳性质控品、阴性质控品，其中病毒裂解液为含有 10 mM Tris、1% SDS、1.0 mM EDTA，pH8.0 的缓冲液，qPCR 反应液为探针法荧光定量 PCR 反应液，阴性质控品为灭菌生理盐水，阳性质控品是含有淡水鱼类桑提库珀蛙病毒衣壳蛋白基因的载体。

8、一种由权利要求 5 所述的检测淡水鱼类桑提库珀蛙病毒荧光定量检

测试剂盒在检测淡水鱼类桑提库珀蛙病毒中的应用，其特征在于，包括以下步骤：

待检样品使用病毒裂解液采用煮沸裂解法提取 DNA，分别加入到引物探针混合液，再加入 PCR 反应液，混匀后进行荧光定量 PCR，反应条件为 95℃ 条件下反应 10 分钟；然后 95℃ 反应 15 秒，60℃ 反应 45 秒，共 40 个循环；荧光信号收集时设定为 FAM，荧光信号收集设在 60℃ ；

结果判断：如果检测通道没有出现 S 型扩增曲线，判为淡水鱼类桑提库珀蛙病毒阴性；如果检测通道出现 S 型扩增曲线，Ct 值 \leq 35，则淡水鱼类桑提库珀蛙病毒别判定为阳性。

10

15

20

25