



中华人民共和国国家标准

GB/T 37746—2019

草鱼呼肠孤病毒三重 RT-PCR 检测方法

Triplex RT-PCR assay for detection of grass carp reoviruses

2019-06-04 发布

2020-01-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会(SAC/TC 156)归口。

本标准起草单位:中国水产科学研究院珠江水产研究所。

本标准主要起草人:曾伟伟、王庆、吴淑勤、王英英、石存斌、宋新建、李莹莹、赵长臣。

引 言

本文件的发布机构提请注意如下事实,声明符合本文件时,可能涉及到第7章“操作步骤”和附录B“引物”与《用于诊断草鱼呼肠孤病毒的三重PCR检测引物组、试剂盒及方法》(专利号:ZL 201210039379.8)等相关专利的使用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证,他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下,就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人:中国水产科学研究院珠江水产研究所

地址:广州市荔湾区西塱兴渔路1号珠江水产研究所

请注意除上述专利外,本文件的某些内容仍可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

草鱼呼肠孤病毒三重 RT-PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了 3 种不同基因型草鱼呼肠孤病毒的三重 RT-PCR 检测技术。
本标准适用于对草鱼的 3 种基因型呼肠孤病毒的核酸进行检测与分离株的鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

SC/T 7103 水生动物产地检疫采样技术规范

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DEPC:焦炭酸二乙酯(diethylpyrocarbonate)

dNTP:脱氧核苷酸三磷酸(deoxy-ribonucleoside triphosphate)

EB:溴化乙锭(ethidium bromide)

GCRV:草鱼呼肠孤病毒(grass carp reovirus)

M-MLV RT:莫洛尼氏鼠白血病病毒逆转录酶(moloney murine leukemia virus reverse transcriptase)

PBS:磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution)

PCR:聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)

RNA:核糖核酸(ribonucleic acid)

RNase inhibitor:RNA 酶抑制剂

RT-PCR:逆转录-聚合酶链式反应(reverse-transcription polymerase chain action)

Taq DNA polymerase:*Taq* DNA 聚合酶

三重 RT-PCR:三重逆转录-聚合酶链式反应(triplex reverse transcriptase polymerase chain reaction)

4 技术原理

草鱼呼肠孤病毒(GCRV)现有 I、II 和 III 型 3 个基因型,根据同一基因型不同毒株之间共有的保守序列分别设计特异性引物,这些引物可以特异性扩增相对应基因型分离株的核酸,而不能扩增其他基因型分离株的核酸。在同一聚合酶链式反应(PCR)反应体系里加入针对 3 个基因型的 3 对保守引物,便可同时扩增出 3 个大小有差异的核酸片段,可以通过琼脂糖凝胶电泳的电泳条带分子量大小来区分,从而达到特异性检测和鉴别不同基因型 GCRV 的目的。