



中华人民共和国国家标准

GB/T 36820—2018

甘蔗条纹花叶病毒实时荧光反转录聚合酶 链式反应(RT-PCR)检测方法

Detection method of *Sugarcane streak mosaic virus* by real-time reverse
transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)

2018-09-17 发布

2019-04-01 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。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:福建农林大学国家甘蔗工程技术研究中心、农业部甘蔗及制品质量监督检验测试中心、农业部福建甘蔗生物学与遗传育种重点实验室。

本标准主要起草人:高三基、黄美婷、傅华英、孙生仁、张慧丽、王锦达、陈如凯。

甘蔗条纹花叶病毒实时荧光反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测方法

1 范围

本标准规定了甘蔗条纹花叶病毒(*Sugarcane streak mosaic virus*)实时荧光反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测方法的仪器与设备、试剂与材料、样品的采集与前处理、检测以及结果判断与表述等。

本标准适用于可能带有甘蔗条纹花叶病毒的活体寄主植物的快速检测、诊断。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CP:外壳蛋白(coat protein)

Ct 值:实时荧光 PCR 反应中,每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数(cycle threshold)

cDNA:与 RNA 链互补的单链 DNA(complementary DNA)

Ex Taq HS 酶:热启动 DNA 聚合酶(hot start DNA polymerase)

FAM:6-羧基荧光素(6-carboxy-fluorescein)

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

RNA:核糖核酸(ribonucleic acid)

RT-PCR:反转录聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction)

SCSMV:甘蔗条纹花叶病毒(*Sugarcane streak mosaic virus*)

TAMRA:6-羧基四甲基罗丹明(6-carboxytetramethylrhodamine)

Tip:吸头

3 方法原理

根据甘蔗条纹花叶病毒 CP 基因序列设计一对仅在该病毒 CP 基因间保守的特异性引物和一条特异性的荧光双标记水解型寡核苷酸探针(TaqMan 探针)。首先利用反转录酶将病毒 RNA 反转成 cDNA,再以 cDNA 为模板在同一反应管内连续进行实时荧光 PCR 扩增反应,水解型寡核苷酸探针(TaqMan 探针)的荧光信号强度伴随着目标序列 PCR 扩增产物的增加呈正比关系,通过收集 PCR 扩增过程的荧光信号值,即可判断试样是否带有目标序列。甘蔗条纹花叶病信息参见附录 A。

4 仪器与设备

4.1 实时荧光 PCR 检测仪:激发/检测波长范围 350 nm~750 nm;可用荧光染料(SYBR Green I)和水解型寡核苷酸探针(TaqMan 探针);升降温速度 ≥ 2.0 °C/s;均一性 ± 0.5 °C;准确性 ± 0.3 °C;温度范围 4 °C~100 °C。

4.2 核酸蛋白分析仪或紫外分光光度计。

4.3 电子天平:感量 0.01 g。