



中华人民共和国国家标准

GB/T 27644—2011

禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测方法

Protocol of real-time PCR for detecting Gallid Hepers Virus 2

2011-12-30 发布

2012-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
禽 痘 疹 病 毒 2 型 荧 光 PCR 检 测 方 法
GB/T 27644—2011

*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行
北 京 市 朝 阳 区 和 平 里 西 街 甲 2 号 (100013)
北 京 市 西 城 区 三 里 河 北 街 16 号 (100045)

网 址 : www.gb168.cn

服 务 热 线 : 010-68522006

2012 年 3 月 第 一 版

*

书 号 : 155066 · 1-44332

版 权 专 有 侵 权 必 究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、扬州大学、河南农业大学。

本标准主要起草人:詹爱军、刘文博、王新卫、卢体康、花群义、陈书琨、秦智锋、陈兵、高小博。

禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测的操作方法。

本标准适用于禽疱疹病毒 2 型的鉴定及其流行病学调查、诊断、检疫和监测。

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

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Ct 值:每个反应管内的荧光信号量达到设定的阈值时所经历的循环数。

DNA:deoxyribonucleic acid 脱氧核糖核酸。

dNTP:deoxy-ribonucleoside triphosphate 三磷酸脱氧核糖核苷。含有 dCTP、dGTP、dATP、dTTP 四种脱氧核糖核苷。

EDTA:ethylene diaminetetraacetic acid 乙二胺四乙酸。

GHV 2:Gallid HepersVirus 2 禽疱疹病毒 2 型(马立克氏病病毒血清 1 型)。

MD:Marek's Disease 马立克氏病。

PBS:phosphate balanced solution 磷酸盐缓冲生理盐水。

PCR:polymerase chain reaction 聚合酶链式反应。

Real-time PCR:Real-time polymerase chain reaction 实时荧光聚合酶链反应。

Taq 酶:Thermus aquaticus polymerase 耐热 DNA 聚合酶。

4 试剂

4.1 试剂级别:除另有规定,本方法试验用水应符合 GB/T 6682 规定的二级水,所用化学试剂均为分析纯。

4.2 禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测试剂盒,−20 °C 保存,组成及使用注意事项参见附录 A。

4.3 引物和探针序列(产物长度 142 bp)

上游引物:5' CCACCACCTCCCATCTGTAC 3'

下游引物:5' GACAAGGCTGAGCGTAAACC 3'

TaqMan 探针:5' ACACGGCTCGGTAACAGGACACAATG 3',其 5'端和 3'端分别标记 FAM 和 BHQ(或 Tamra 或 Eclipse)。

4.4 1%肝素钠,配制方法见 B.1,4 °C 保存。

4.5 三氯甲烷,常温保存。