



中华人民共和国水产行业标准

SC/T 7204.3—2007

对虾桃拉综合征诊断规程 第3部分：RT-PCR 检测法

Diagnostic Protocols for Taura Syndrome of Penaeid Shrimp—
Part 3: RT-PCR Method

2007-06-14 发布

2007-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

SC/T 7204《对虾桃拉综合征诊断规程》分为四个部分：

- 第1部分：外观症状诊断法；
- 第2部分：组织病理学诊断法；
- 第3部分：RT-PCR 检测法；
- 第4部分：指示生物检测法。

本部分为 SC/T 7204 的第3部分。

本部分的附录 A 和附录 B 为规范性附录，附录 C 为资料性附录。

本部分由中华人民共和国农业部渔业局提出。

本部分由全国水产标准化技术委员会归口。

本部分起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、全国水产技术推广总站。

本部分主要起草人：黄健、杨冰、陈爱平、宋晓玲、史成银、杨丛海、魏琦。

对虾桃拉综合征诊断规程

第 3 部分:RT-PCR 检测法

1 警告—使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验,本标准并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关法规规定的条件。

2 范围

SC/T 7204 的本部分规定了对虾桃拉综合征 RT-PCR 检测法的原理、试剂与材料、仪器设备、操作步骤和结果判定。

本部分适用于对虾的各生活期、非对虾的生物和底泥等样品中 TSV 带毒情况的定性检测、病原筛查和疾病的确诊。不适用于对病毒量、存在状态(玷污、携带和感染状态)或感染活性等的估测以及宿主感染程度的评估。

3 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

SC/T 7202.1—2007 斑节对虾杆状病毒病诊断规程 第 1 部分:压片显微镜检查法

SC/T 7202.2—2007 斑节对虾杆状病毒病诊断规程 第 2 部分:PCR 检测法

SC/T 7204.2—2007 对虾桃拉综合征诊断规程 第 2 部分:组织病理学诊断法

4 原理

4.1 桃拉综合征的病原和病理学特征

见 SC/T 7204.2—2007 (对虾桃拉综合征诊断规程 第 2 部分:组织病理学诊断法)3.1 中的规定。

4.2 技术原理

逆转录聚合酶链式反应(Reverse-transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)是先利用依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶,将待测 RNA 逆转录为 DNA;再以逆转录后的一段 DNA 作为模板,以模板 DNA 两端序列互补的一对特异性寡核苷酸序列作为引物,在四种脱氧核糖核苷三磷酸存在下,利用依赖于 DNA 的 DNA 聚合酶的催化作用。经过数十次变性、退火和延伸的反应循环,使模板上介于两个引物之间的 DNA 片段得到特异性地指数扩增,再通过电泳等手段检测到被特异性扩增的片段,从而可揭示微量病毒 RNA 的存在。

5 试剂和材料

5.1 除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

5.2 焦乙酸二乙酯(DEPC):生化试剂。

5.3 TRIzol™试剂:生化试剂。

注:可采用相同功效的产品代替。

5.4 氯仿。