

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4097—2015

贝类派琴虫实时荧光 PCR 检测方法

Real-time fluorescent PCR quarantine protocol for *Perkinsus* sp.in shellfish

2015-02-09 发布

2015-09-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：张雪、肇慧君、李叶、李振荣、贾赞。

贝类派琴虫实时荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了贝类中派琴虫的实时荧光 PCR 检测方法。

本标准适用于贝类组织中派琴虫的检测。

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 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实时荧光 PCR real-time fluorescent PCR

在普通聚合酶链反应的基础上加入一条特异性的荧光探针,该探针为一寡核苷酸,两端分别标记一个报告荧光基团和一个淬灭荧光基团。探针完整时,报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收;PCR 扩增时,*Taq* 酶的 5'-3'外切酶活性将探针酶切降解,使报告基团和淬灭基团分离,从而荧光监测系统可接收到荧光信号,即每扩增一条 DNA 链,就有一个荧光分子形成,实现荧光信号的累积与 PCR 产物形成完全同步,达到实时定量的目的。

3.2

Ct 值 cycle threshold

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,也可称为 C_p 值。

4 试剂和材料

4.1 1 mol/L Tris · Cl(pH 8.0),0.5 mol/L EDTA 溶液(pH 8.0)、SDS(10%)。溶液配制见附录 A。

4.2 蛋白酶 K 溶液(20 mg/mL)。

4.3 Tris 饱和酚。

4.4 三氯甲烷。

4.5 异戊醇。

4.6 无水乙醇。

4.7 生理盐水。

4.8 10×PCR buffer、25 mmol/L $MgCl_2$ 、2.5 mmol/L dNTP、5 U/ μ L *Taq* 酶。

4.9 10 μ mol/L 上游引物、10 μ mol/L 下游引物、10 μ mol/L 探针。

4.10 TE 缓冲液(pH 8.0)。