

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3586—2013

羊痒病抗性基因型检测方法

Quarantine protocol for scrapie resistance gene genotyping

2013-08-30 发布

2014-03-01 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：中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国烟台出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：董志珍、肖妍、栾慎顺、陈本龙、方绍庆。

羊痒病抗性基因型检测方法

1 范围

本标准规定了羊痒病抗性基因型检测方法。

本标准适用于绵羊血液样本的羊痒病朊蛋白编码基因的分型。

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。

PRNP:1 朊蛋白编码基因(prion protein)

Real-Time PCR:Real-Time Polymerase Chain Reaction 实时荧光定量 PCR

DNA:deoxyribonucleic acid 脱氧核糖核酸

EDTA 二钾盐: $C_{10}H_{14}K_2N_2O_8 \cdot 2H_2O$ 乙二胺四乙酸二钾盐

4 试验原理

羊痒病概述参见附录 A。

引起羊痒病的病原朊蛋白是一种正常的唾液酸糖蛋白(PrP^c)在二级结构发生改变后形成的异常蛋白(PrP^{sc})。该病的发生与绵羊朊蛋白编码基因 PRNP 遗传多样性密切相关,主要表现在 PRNP 第 136、154 和 171 位密码子组成的 PRNP 基因型与绵羊对痒病的抗病性的联系。根据 GenBank 报道的 PRNP 序列,设计合成了 3 套特异性的引物和 Taqman 探针,借助实时荧光定量 PCR 检测体系及其之后的终点读板模式,对 PRNP 的第 136、154 和 171 位密码子进行检测,用来判定被检测羊是否含有传染性羊痒病抗性基因。

5 试验材料

5.1 试剂

5.1.1 各型绵羊 PRNP 标准品:136 纯合子、154 纯合子、171-1 纯合子、171-2 纯合子。

5.1.2 基因扩增预混液:Taqman Universal PCR MasterMix 或其他基因扩增预混液。

5.1.3 基因组 DNA 提取试剂盒。

5.1.4 50 mg/mL 的 EDTA。

5.1.5 双蒸水。符合 GB/T 6682 的要求。

5.1.6 注射用水。