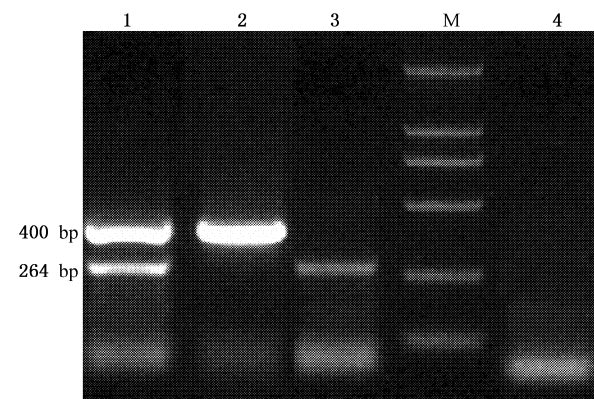


附录 D  
(资料性附录)

猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 产物电泳图



M—DNA 分子量标准(DL2000 Marker);  
 1—PRRSV 高致病性和经典毒株混合物阳性对照;  
 2—PRRSV 高致病性毒株阳性对照;  
 3—PRRSV 经典毒株阳性对照;  
 4—阴性对照。

图 D.1 猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 产物电泳图

GB/T 27517—2011



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 27517—2011

## 鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 方法

A multiplex RT-PCR method to differentiate the highly pathogenic and classical porcine reproductive and respiratory syndrome virus



GB/T 27517-2011

版权专有 侵权必究  
 \*  
 书号:155066·1-44035  
 定价: 16.00 元

2011-11-21 发布

2012-03-01 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

C.3 使用时的注意事项

C.3.1 由于阳性样品中模板浓度相对较高,注意检测过程中不得交叉污染。

C.3.2 注意防止试剂盒组分受污染。试剂盒之间的成分勿混用。

C.3.3 请按照说明书要求分别在 4 ℃、-20 ℃保存不同的试剂,试剂盒有效期为 6 个月。使用时在室温下融化,暂放置于冰上,使用后立即放回。

C.3.4 反转录反应体系与 PCR 反应体系应避免反复冻融,在使用前应瞬时离心,以保证反应液集中在管底。

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性  
与经典毒株复合 RT-PCR 方法

GB/T 27517—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.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 17 千字

2012 年 2 月第一版 2012 年 2 月第一次印刷

\*

书号:155066·1-44035 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68510107

## 附录 C

(资料性附录)

## 鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 反应体系组成、说明及使用时注意事项

## C.1 试剂盒组成

表 C.1 试剂盒组成

组成成分	数量
反转录反应体系	20 管(10 $\mu\text{L}$ /管)
PCR 反应体系	20 管(21 $\mu\text{L}$ /管)
阳性对照	500 $\mu\text{L}$
阴性对照	500 $\mu\text{L}$
裂解液	6.5 mL
氯仿	2.5 mL
异丙醇	4 mL
75%乙醇	15 mL
DEPC 处理水	2 mL
50 倍 TAE 电泳缓冲液	40 mL
溴化乙锭溶液	40 $\mu\text{L}$
上样缓冲液	120 $\mu\text{L}$
石蜡油	1.5 mL

## C.2 说明

C.2.1 反转录反应体系成分: M-MLV 5 $\times$  Reaction buffer(含  $\text{Mg}^{2+}$ ), 4  $\mu\text{L}$ ; 2.5 mmol/L dNTPs, 4  $\mu\text{L}$ ; M-MLV, 0.5  $\mu\text{L}$ ; RNA 酶抑制剂, 0.5  $\mu\text{L}$ ; 共用反转录引物(P3, 也是复合 PCR 共用下游引物) 1  $\mu\text{L}$ ; 总体积 10  $\mu\text{L}$ 。

C.2.2 复合 PCR 反应体系成分: 10 $\times$  PCR 缓冲液(含  $\text{Mg}^{2+}$ ), 2.5  $\mu\text{L}$ ; 2.5 mmol/L dNTPs, 2  $\mu\text{L}$ ; P1, 0.5  $\mu\text{L}$ ; P2, 0.5  $\mu\text{L}$ ; P3, 1  $\mu\text{L}$ ; ExTaq DNA 聚合酶, 0.5  $\mu\text{L}$ (2.5 U); 灭菌双蒸水, 14.0  $\mu\text{L}$ ; 总体积为 21  $\mu\text{L}$ 。

C.2.3 裂解液的主要成分是 TriZol, 为 RNA 提取试剂, 外观为粉红色, 于 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

C.2.4 反转录反应体系中含猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株共用反转录引物、反转录酶及各种离子。

C.2.5 PCR 反应体系中含猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株特异性引物对、ExTaq 酶及各种离子。

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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: 河南省动物疫病预防控制中心。

本标准主要起草人: 吴志明、闫若潜、张志凌、张健、荆汝顶、刘光辉、赵明军、曹杰伟、钱勇、程俊贞、赵雪丽、张盼。