

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3841—2014

出口贝类中诺如病毒和星状病毒的快速 检测 反转录-环介导恒温核酸扩增 (RT-LAMP)法

Rapid detection of norovirus and astrovirus in shellfish for export—
Reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification method

2014-01-13 发布

2014-08-01 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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：中华人民共和国北京出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：魏海燕、曾静、马丹、张西萌、张蕾。

出口贝类中诺如病毒和星状病毒的快速 检测 反转录-环介导恒温核酸扩增 (RT-LAMP)法

1 范围

本标准规定了贝类中诺如病毒和星状病毒的反转录-环介导恒温核酸扩增(RT-LAMP)快速检测方法。

本标准适用于贝类中诺如病毒和星状病毒的快速检测。

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

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

SN/T 1635 贝类中诺沃克病毒检测方法 普通 RT-PCR 方法和实时荧光 RT-PCR 方法

SN/T 2519 贝类中星状病毒检测方法 普通 PCR 和实时荧光 PCR 方法

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

3.1 Betaine:甜菜碱。

3.2 *Bst* 酶:*Bst* DNA polymerase(large fragment),*Bst* DNA 聚合酶(大片段)。

3.3 dNTP:deoxyribonucleoside triphosphate,脱氧核苷三磷酸。

3.4 LAMP:loop-mediated isothermal amplification,环介导恒温扩增。

3.5 RNA:Ribonucleic acid,核糖核酸。

4 技术概要

利用 GPTT 法(Glycine-PEG-Trizol-oligo dT)或纳米磁珠法提取贝类样品中的病毒 RNA;分别选取星状病毒衣壳蛋白编码基因(ORF2)5'端、G I 型和 G II 型诺如病毒 ORF1 与 ORF2 接头处的高度保守序列,设计 5 条~6 条 RT-LAMP 引物,特异性识别病毒 RNA 上的 7 个~8 个独立区域,在具有链置换作用的 *Bst* 酶、AMV 反转录酶作用下,于等温条件(63 °C 或 65 °C)保温 60 min,即可一步实现对病毒 RNA 的高效扩增。扩增反应产生大量副产物(焦磷酸镁)形成乳白色沉淀,在反应管中加入 SYBR Green I 荧光染料,阳极反应呈荧光绿色,而阴性反应为荧光橙色。

5 试剂和材料

除有特殊说明外,所有实验用试剂均为分析纯;实验用水符合 GB/T 6682 中一级水的要求。