

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1675—2005

SN/T 1675—2005

### 鱼真鲷虹彩病毒聚合酶链反应 操作规程

Protocol of polymerase chain reaction (PCR) for  
red sea-bream iridovirus (RSIV) of fish

中华人民共和国出入境检验检疫  
行业标准  
鱼真鲷虹彩病毒聚合酶链反应  
操作规程

SN/T 1675—2005

\*

中国标准出版社出版  
北京复兴门外三里河北街16号  
邮政编码:100045

网址 [www.bzcb.com](http://www.bzcb.com)

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

\*

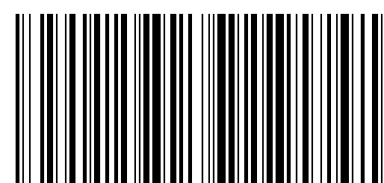
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字

2006年1月第一版 2006年1月第一次印刷

印数 1—2 000

\*

书号: 155066·2-16599 定价 8.00 元



SN/T 1675-2005

2005-09-30 发布

2006-05-01 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

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。  
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:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。  
本标准主要起草人:刘荭、范万红、罗卫、黄逊、吕建强、秦智锋。  
本标准为首次发布的出入境检验检疫行业标准。

附录 A  
(规范性附录)  
试剂配制

#### A.1 溴代十六烷基二甲胺(CTAB)溶液

按 2% CTAB, 1.4 mol/L NaCl, 20.0 mmol/L EDTA, 20.0 mol/L Tris-HCl pH 7.5 配制。用前加巯基乙醇到终浓度为 0.25%。

#### A.2 抽提液 1

三氯甲烷-异戊醇, 将三氯甲烷和异戊醇按 24:1 的比例混合, 密闭避光保存。

#### A.3 抽提液 2

酚-三氯甲烷-异戊醇, 用 1.0 mol/L pH 7.9±0.2 Tris 饱和过的重蒸酚: 三氯甲烷: 异戊醇按 25:24:1 的比例混合, 密闭避光保存。

#### A.4 氯化镁(MgCl<sub>2</sub>)

25.0 mmol/L。

#### A.5 Taq 酶用 10 倍浓缩缓冲液(10×buffer)

Tris-HCl	500.0 mmol/L pH 8.8
氯化钾(KCl)	500.0 mmol/L
TritonX-100	1%

#### A.6 TBE 电泳缓冲液(5 倍浓缩液)

Tris	54.0 g
硼酸	27.5 g
EDTA	2.9 g
加水到	1 000.0 mL

用 5.0 mol/L 的盐酸调 pH 到 8.0。

#### A.7 溴化乙锭(EB)溶液

用水配制成 10.0 mg/mL 的浓缩液。用时每 10.0 mL 电泳液或琼脂中加 1.0 μL。

#### A.8 溴酚蓝指示剂溶液(6×上样缓冲液)

溴酚蓝 100 mg, 加双蒸水 5 mL, 在室温下过夜, 待溶解后再称取蔗糖 25 g, 加双蒸水溶解后移入溴酚蓝溶液中, 摇匀后定容至 50 mL, 加入氢氧化钠溶液 1 滴, 调至蓝色。

## 鱼真鲷虹彩病毒聚合酶链反应 操作规程

### 1 范围

本标准规定了用聚合酶链式反应技术检测鱼真鲷虹彩病毒的方法。  
本标准适用于鱼真鲷虹彩病毒的检测及鉴定。

### 2 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。

- GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法(eqv ISO 3696:1987)
- GB/T 18088—2000 出入境动物检疫采样

### 3 试剂和材料

除特别说明外, 本标准使用试剂均为分析纯。

- 3.1 水: 应符合 GB/T 6682—1992 中一级水的规格。
- 3.2 Taq 酶: 5 U/μL, -20℃ 保存, 不要反复冻融或温度剧烈变化。
- 3.3 dNTP: 含 dCTP、dGTP、dATP、dTTP 各 10 mmol/L。
- 3.4 引物: 浓度为 40 μmol/L。其序列如下:  
RSIV-F: 5'-GTG ACT GCA CAC CAA TGG AC-3'  
RSIV-R: 5'-GGC TTT CTC AAT CAG CTT GC-3'
- 3.5 无水乙醇: 分析纯, 使用前预冷到 -20℃。
- 3.6 矿物油: 使用无热盖的 PCR 仪时使用, 要求无 DNA 酶。
- 3.7 核酸分子量标准参照物。
- 3.8 溴代十六烷基二甲胺(CTAB)。
- 3.9 溴化乙锭(EB)。
- 3.10 酚。
- 3.11 三氯甲烷。
- 3.12 异戊醇。
- 3.13 巯基乙醇。
- 3.14 三羟甲基氨基甲烷(Tris)。
- 3.15 硼酸。
- 3.16 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)。
- 3.17 溴酚蓝。
- 3.18 蔗糖。
- 3.19 盐酸。

### 4 器材和设备

- 4.1 PCR 扩增仪。