



中华人民共和国国家标准

GB/T 19438.3—2004

H7 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法

Method of real-time RT-PCR for the detection

of the Avian Influenza virus subtype H7

2004-2-15 发布

2004-2-15 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
国家 标 准 化 管 理 委 员 会

发布

前 言

本标准是依据GB/T1.1—2000《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》制定的。

本标准的附录A为本标准的资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准起草单位：中华人民共和国北京出入境检验检疫局、深圳市匹基生物工程股份有限公司。

本标准主要起草人：高志强，张鹤晓，郭晋优，刘继红，吴丹。

本标准系首次发布的国家标准。

H7 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了荧光RT-PCR检测H7亚型禽流感病毒的操作方法。
本标准适用于活禽及其产品中H7亚型禽流感病毒的检测。

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 19438.1-2004 禽流感病毒通用荧光RT-PCR检测方法

3 缩略语

下列缩略语适用于本标准：

| | |
|-----------|--|
| 荧光 RT-PCR | 荧光反转录-聚合酶链式反应。 |
| 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。 |
| RNA | Ribonucleic acid, 核糖核酸。 |
| Taq 酶 | Taq DNA 聚合酶。 |
| PBS | 磷酸盐缓冲盐水。 |
| DEPC | 焦碳酸乙二酯。 |

4 原理

采用TaqMan方法，通过比对禽流感病毒血凝素基因，设计一对仅在H7亚型禽流感病毒血凝素基因间保守的特异性引物和一条特异性的荧光双标记探针。探针的结合部位位于目的扩增片段内部。其中5'端标记FAM荧光素为报告荧光基团（R），3'端标记的TAMRA荧光素（Q）在近距离内能吸收5'端荧光基团发出的荧光信号，称为淬灭荧光基团。反应在退火时，引物和探针同时与目的基因片段结合，探针上R基团发出的荧光信号被Q基团所吸收，仪器检测不到荧光信号；而反应进行到延伸阶段时，Taq酶发挥5'→3'的外切核酸酶功能，将探针降解。这样探针上的R基团游离出来，所发出的荧光不再为Q所吸收而被检测仪所接收。随着PCR反应的循环进行，PCR产物与荧光信号的增长呈现对应关系。

5 试剂和材料

5.1 试剂

除特别说明外，本标准所用试剂均为分析纯，所用液体试剂均须使用无RNA酶的容器进行分装。

H7亚型禽流感病毒荧光RT-PCR检测试剂盒¹⁾：试剂盒的组成、说明及使用注意事项见本标准附录A。

氯仿。

异丙醇。

75%乙醇，用新开启的无水乙醇和无RNA酶的水（符合GB 6682-92要求）配制。

0.01 M (pH7.2)的PBS：配方见GB/T 19438.4-2004附录A。121 ± 2 ，15 min 高压灭菌后，

1) 由指定单位提供，给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效产品。