



中华人民共和国国家标准

GB/T 34738—2017

蜜蜂囊状幼虫病荧光 PCR 检测方法

Method of the real-time PCR for the detection of honey bees sacbrood disease

2017-11-01 发布

2018-05-01 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

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。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位：中华人民共和国吉林出入境检验检疫局、吉林大学、中华人民共和国福建出入境检验检疫局。

本标准起草人：宋战昫、冯新、孟日增、刘金华、魏春艳、牟峻、王振国、郑腾、孟庆峰、蔡阳、肖成蕊、王伟利。

蜜蜂囊状幼虫病荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了蜜蜂囊状幼虫病荧光 PCR 检测方法。
本标准适用于蜜蜂及其幼虫中囊状幼虫病的检测。

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/T 18088 出入境动物检疫采样

3 试剂和材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。所有试剂均用无 RNA 酶污染的容器(用焦碳酸二乙酯水处理后高压灭菌)分装。

3.1 水,GB/T 6682,三级。

3.2 蜜蜂囊状幼虫病毒。

3.3 引物和探针,上游引物 F1(10 pmol/ μ L):5'-AAG TTG GAG GCG CGY ATT TG-3',下游引物 R1(10 pmol/ μ L):5'-CAA ATG TCT TCT TAC DAG AAG YAA GGA TTG-3',探针 P1(5 pmol/ μ L):5'-FAM-CGG AGT GGA AAG AT-TAMRA-3'。

3.4 磷酸盐缓冲盐水,配制方法见 A.1。

3.5 总 RNA 抽提试剂。

3.6 氯仿。

3.7 异丙醇。

3.8 75%乙醇。

注:用新开启的无水乙醇和焦碳酸二乙酯水配制。

3.9 焦碳酸二乙酯处理的水。

3.10 反转录酶。

3.11 RNA 酶抑制剂(40 U/ μ L)。

3.12 5 \times 反转录酶缓冲液。

3.13 10 \times PCR 反应缓冲液(含镁离子)。

3.14 DNA 聚合酶(5 U/ μ L)。

3.15 三磷酸脱氧核糖核苷酸(dNPTs 每种浓度均为 10 mmol/L)。

4 器材

4.1 荧光定量 PCR 扩增仪。