



中华人民共和国国家标准

GB/T 36806—2018

甘蔗杆状病毒实时荧光 PCR 检测方法

Detection of *Sugarcane bacilliform virus* by real-time PCR

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
甘蔗杆状病毒实时荧光
PCR 检测方法
GB/T 36806—2018

*

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(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.spc.org.cn

服务热线: 400-168-0010

2018年9月第一版

*

书号: 155066·1-61159

版权专有 侵权必究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本标准起草单位:福建农林大学国家甘蔗工程技术研究中心、农业部甘蔗及制品质量监督检验测试中心、农业部福建甘蔗生物学与遗传育种重点实验室。

本标准主要起草人:高三基、孙生仁、吴小斌、黄美婷、傅华英、王锦达、张慧丽、陈如凯。

甘蔗杆状病毒实时荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了甘蔗杆状 IM 病毒(*Sugarcane bacilliform IM virus*, SCBIMV)和甘蔗杆状 MO 病毒(*Sugarcane bacilliform MO virus*, SCBMOV)实时荧光 PCR 检测方法的仪器与设备、试剂与材料、样品的采集与前处理、检测以及结果判断与表述等。

本标准适用于可能带有 SCBIMV 和 SCBMOV 病毒的活体寄主植物的快速检测、诊断。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CTAB:十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethyl ammonium bromide)

Ct 值:实时荧光 PCR 反应中,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(cycle threshold)

DNase:脱氧核糖核酸酶(deoxyribonuclease)

EDTA-Na₂:乙二胺四乙酸二钠(edetate disodium)

FAM:6-羧基荧光素(6-carboxy-fluorescein)

PCR:聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)

RNase:核糖核酸酶(ribonuclease)

RT/RNase H:逆转录酶/核糖核酸酶 H(reverse transcriptase/RNase H)

SCBIMV:甘蔗杆状 IM 病毒(*Sugarcane bacilliform IM virus*)

SCBMOV:甘蔗杆状 MO 病毒(*Sugarcane bacilliform MO virus*)

SCBV:甘蔗杆状病毒(*Sugarcane bacilliform virus*)

TAMRA:6-羧基四甲基罗丹明(6-carboxytetramethylrhodamine)

Tris-HCl:三羟甲基氨基甲烷盐酸盐[Tris(hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride]

3 甘蔗杆状病毒基本信息

甘蔗杆状病毒属于花椰菜花叶病毒科(*Caulimoviridae*)杆状 DNA 病毒属(*Badnavirus*),英文名称为 *Sugarcane bacilliform virus*,缩写为 SCBV。国际病毒分类委员会(ICTV)于 2012 年将 SCBV 的 2 个分离物正式定为甘蔗杆状 IM 病毒(*Sugarcane bacilliform IM virus*, SCBIMV)和甘蔗杆状 MO 病毒(*Sugarcane bacilliform MO virus*, SCBMOV)两个不同的种。甘蔗杆状病毒其他信息参见附录 A。

4 方法原理

在比对甘蔗杆状病毒基因组序列的基础上,设计一对仅在该病毒 RT/RNase H 基因间保守的特异性引物和一条特异性的荧光双标记 TaqMan 探针。在实时荧光 PCR 扩增反应中,TaqMan 探针的荧光信号强度伴随着目标序列 PCR 扩增产物的增加呈正比关系,通过收集 PCR 扩增过程的荧光信号值,即