

ICS 65.020.30

CCS B 44

# DB44

## 广东省地方标准

DB44/T 2338—2021

### 实验动物 病原核酸液相芯片法定性分析

Laboratory animals Qualitative analysis of pathogen nucleic acids with suspension array method

地方标准信息服务平台

2021 - 10 - 18 发布

2022 - 01 - 18 实施

广东省市场监督管理局 发布



## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 缩略语 .....	1
5 原理 .....	2
6 主要设备和材料 .....	2
7 试剂 .....	2
8 方法 .....	3
9 结果 .....	6
10 防止交叉污染的措施 .....	7
附录 A（规范性） 溶液的配制 .....	8
附录 B（资料性） 实验动物病原液相基因芯片引物 .....	9

地方标准信息服务平台

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由广东省科学技术厅提出并组织实施。

本文件由广东省实验动物标准化技术委员会（GD/TC 93）归口。

本文件起草单位：广东省实验动物监测所。

本文件主要起草人：黄韧、袁文、王静、徐凤姣、朱余军，伍妙梨、黄碧洪、罗银珠、何丽芳、闵凡贵、丛峰、张钰、郭鹏举。

地方标准信息服务平台

# 实验动物 病原核酸液相芯片法定性分析

## 1 范围

本文件规定了实验动物病原核酸的液相芯片定性分析方法。  
本文件适用于基于液相芯片方法的实验动物病原核酸的定性分析。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**液相芯片技术** suspension array technology

液相芯片技术又被称为悬浮阵列、流式荧光术、xMAP技术等。它是在不同荧光编码的微球上进行抗原-抗体、酶-底物、配体-受体的结合反应及核酸杂交反应，通过红、绿两束激光分别识别微球编码和报告荧光来达到定性和定量的目的，一个反应孔内可以完成多达100种不同的生物学反应，是继基因芯片、蛋白芯片之后的新一代高通量多分子分析技术平台。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

cDNA 互补 DNA (complementary DNA)  
CPE 细胞病变效应 (cytopathic effect)  
DEPC 焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate)  
DNA 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)  
MFI 中位荧光强度值 (median fluorescence intensity)  
PBS 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline)  
PCR 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)  
RNA 核糖核酸 (ribonucleic acid)  
SA-PE 链霉亲和素-藻红蛋白 (streptavidin R-phycoerythrin)  
xMAP 多分子分析技术 (flexible multi-analyte profiling technology)

## 5 原理

本文件方法的核酸扩增原理是基于每种病原微生物都可通过特异性的PCR引物来进行核酸扩增，在每种特定目的片段的扩增引物5'端与对应的标签（TAG）序列的3'端通过间臂连接，另一条原始引物的5'端添加生物素标记；这样所扩增的基因片段既带有TAG标签，也带有生物素标记，以供后期的液相芯片特异性识别目标分子。

本文件方法的液相芯片检测原理是采用2种荧光染料对直径约为5.6 μmol/L带磁性聚苯乙烯小球（以下简称微球）进行着色，通过不同混合比例产生100种不同配比的色，每一种颜色赋予唯一编码，通过编码识别染色的微球。这些荧光微球表面带有羧基基团（如羧基、亲和素和组氨酸等）可共键结合（或称偶联）不同类型的探针（如抗原、抗体、寡核苷酸探针等），形成带标记的荧光微球。待测样本（如蛋白、核酸等）以生物素标记，再与结合了探针的荧光微球进行特异性结合反应，生物素标记与添加到反应体系中的以PE荧光染料标记的链霉亲和素（Streptavidin）或称SA-PE发生连接可实现荧光信号的放大。因此，整个反应结束后形成的阳性复合物可检测到微球的荧光和SA-PE的荧光信号。液相芯片检测仪工作时，上述复合物在液流系统中快速通过，第一束红色激光识别微球染料和编码，第二束绿色激光读取SA-PE荧光信号的强弱，仪器将获取到的两种光信号进行快速处理并形成数字信号，经软件分析后计算得到每一种待测样本的含量。因此，液相芯片技术是集流式细胞技术、荧光标记微球、激光、数字信号处理和传统的生化技术于一体，可以实现快速高通量多分子定性及定量分析的技术。

## 6 主要设备和材料

- 6.1 液相芯片检测仪。
- 6.2 PCR 仪。
- 6.3 全自动核酸提取仪。
- 6.4 超声波仪。
- 6.5 高速冷冻离心机。
- 6.6 普通离心机。
- 6.7 漩涡振荡器。
- 6.8 组织匀浆器。
- 6.9 生物安全柜。
- 6.10 PCR 超净工作台。
- 6.11 冰箱（-20℃）。
- 6.12 微量移液器（0.1 μL~2 μL，1 μL~10 μL，10 μL~100 μL，100 μL~1000 μL）。
- 6.13 灭菌离心管（1.5 mL、2 mL、5 mL、15 mL），灭菌吸头（10 μL，200 μL，1 mL），灭菌 PCR 扩增反应管（0.2 mL，八连管或 96 孔板）。聚乙烯薄膜袋：90 mm×150 mm 自封袋，使用前紫外灭菌 20 min。
- 6.14 采样工具：剪刀、镊子和灭菌棉拭子等。

## 7 试剂

7.1 以下所用的试剂除特别注明者外均为分析纯，实验用水为双蒸水或去离子水，应符合 GB/T 6682 所规定一级水的要求。所有涉及分子生物学操作的水均为无 DNA 酶、无 RNA 酶水。

- 7.2 表面带有羧基的特定编码微球（浓度为  $1.25 \times 10^7$  beads/mL）。
- 7.3 灭菌 PBS。配制方法见附录 A。
- 7.4 PCR 用水：经 DEPC 处理的水或商品无 DNA 酶、无 RNA 酶水，见附录 A。
- 7.5 核酸抽提试剂：推荐针对不同的样本基质类型和不同病原微生物的核酸类型选取不同的基因组提取试剂盒。
- 7.6 反转录试剂：PrimeScript RT reagent Kit 或其他类似产品。  
注：PrimeScript RT reagent Kit 是本文件中适合的市售产品的使用实例，给出这一信息是为了方便本文件使用者，并不表示对这一产品的认可。亦可使用其他类似试剂。
- 7.7 PCR 试剂：QIAGEN Multiplex PCR Plus Kit 或其他类似产品。  
注：QIAGEN Multiplex PCR Plus Kit 是本文件中适合的市售产品的使用实例，给出这一信息是为了方便本文件使用者，并不表示对这一产品的认可。亦可使用其他类似试剂。
- 7.8 SA-PE 反应液（1 mg/mL）。
- 7.9  $1 \times$ TM 杂交缓冲液，配制见附录 A。
- 7.10 引物：各病原微生物特异性正向引物的 5' 端与对应的 TAG 序列的 3' 端通过间隔臂（Spacer）连接修饰，特异性反向引物 5' 端标记生物素（biotin），所有的引物合成后均需要进行色谱级（HPLC）纯化。

## 8 方法

### 8.1 生物安全措施

对于可能潜在人兽共患病的样本，应在生物安全二级及以上实验室进行操作，采样应在生物安全柜中进行。采样结束，动物尸体及采样器材应高压灭菌后处理。实验操作及处理按照 GB 19489 的规定，由具备相关资质的工作人员进行相应操作。

### 8.2 采样及样本的处理

采样过程中样本不得交叉污染，采样及样本前处理过程中须戴一次性手套。采样及样本处理过程操作人员应做好个人防护。

#### 8.2.1 脏器组织

剖检，无菌采集动物脏器组织，剪取待检样本 0.5 g~2.0 g 于无菌离心管，加入 5 倍体积灭菌 PBS，使用匀浆器充分匀浆 1 min~2 min，然后将组织悬液在 4℃，5 000 g 离心 10 min，取上清液转入另一无菌离心管中，编号备用。

#### 8.2.2 盲肠内容物或粪便

无菌采集动物盲肠内容物或粪便，取待检样本 1.0 g~2.0 g 于无菌 5 mL 离心管，加入 5 倍体积灭菌 PBS，使用匀浆器充分匀浆 1 min~2 min，8 000 g 离心 5 min，取上清液转入另一无菌 5 mL 离心管中，编号备用。

#### 8.2.3 血液样本

无菌采集动物血液 0.2 mL~0.5 mL，加入柠檬酸钠或 EDTA 抗凝管中，轻轻颠倒混匀 3 次~5 次，编号备用。

#### 8.2.4 拭子取样

对活体动物取样可采集肛拭子、咽喉拭子、泄殖腔拭子、鼻拭子、皮肤拭子等，浸泡3 mL无菌PBS中，5 min~10 min，充分混匀后，4 ℃，8 000 *g*离心5 min，取上清液转入另一无菌5 mL离心管中，编号备用。

#### 8.2.5 细胞培养物

应通过以下任一方法取样：

——直接刮取样本接种后出现CPE或可疑的细胞培养物于15 mL离心管中，1 500 *g*离心5 min，弃上清，加1 mL灭菌PBS重悬细胞，然后将细胞悬液转移到无菌1.5 mL离心管中，编号备用；

——将样本接种后出现CPE或可疑的细胞培养物反复冻融3次，细胞混悬液转移于15 mL离心管中，8 000 *g*离心5 min，去细胞碎片，上清液转移到无菌15 mL离心管中，编号备用。

#### 8.2.6 细菌分离培养物

经选择性培养基培养的固体菌落或液体培养物，或待鉴定的纯化培养物，取适量样本装于无菌1.5 mL离心管中，编号备用。

#### 8.2.7 饲料、垫料和饮水

饲料、垫料：取约5 g~10 g饲料和垫料置于50 mL无菌离心管中，加入3倍体积灭菌PBS（饲料和垫料需全部浸泡于液体中）。密封后浸泡5 min~10 min，充分混匀，将混悬液转移至15 mL无菌离心管，4 ℃，8 000 *g*离心5 min，取上清液转入另一无菌5 mL离心管中，编号备用。

饮水：取200 μL~1000 μL实验动物饮水直接转移到无菌1.5 mL离心管中，编号备用。

#### 8.2.8 设施设备

用灭菌棉拭子拭取实验动物设施设备出风口初效滤膜表面约5 cm<sup>2</sup>沉积物，将拭子置入灭菌15 mL离心管，加入3 mL灭菌PBS，浸泡5 min~10 min，充分混匀，取出棉拭子，将离心管于4 ℃，8 000 *g*离心5 min，取上清液转入另一无菌5 mL离心管中，编号备用。

#### 8.2.9 样本的存放

采集或处理的样本在2 ℃~8 ℃条件下保存应不超过24 h，若需长期保存，须放置于-80 ℃冰箱，但应避免反复冻融。

#### 8.2.10 采样废弃物处理

采样结束，动物尸体应使用生物安全垃圾袋包装完整，高压灭菌后交由医疗垃圾处理单位进行处理，采样器材应使用消毒液浸泡或高压灭菌消毒，并做好实验台面及采样室的消毒。

### 8.3 样本核酸提取

8.3.1 在核酸提取区操作，采用DNA或RNA提取商业试剂盒或其他类似试剂盒。

8.3.2 取n个灭菌的1.5 mL离心管，其中n为待检样品数+阳性对照+阴性对照，对每个离心管进行编号，按试剂盒操作说明书进行。

8.3.3 提取好的DNA在2 ℃~8 ℃冰箱可保存一月，-20 ℃冰柜可稳定保存两年；提取好的RNA应尽

快进行下一步 PCR 反应，若暂时不能进行 PCR 反应，应于-80 °C 冰箱保存备用。

## 8.4 核酸扩增

### 8.4.1 反转录（可选）

根据不同病原微生物的核酸类型选择是否进行反转录，DNA病毒和病原菌可直接进行PCR扩增。

在PCR溶液配制区操作，RNA反转录反应体系见表1。反应液的配制在冰上操作，反应条件为37 °C 25 min；85 °C 5 s。反应产物即为cDNA，立即进行下一步PCR反应，若不能立即进行PCR，cDNA保存温度不能低于-20 °C。长时间保藏应置于-80 °C 冰箱。10 μL反应体系可最大使用500 ng的Total RNA。

表1 RNA 反转录反应体系

反应组份	用量 /μL	终浓度
5×PrimeScript Buffer	2	1×
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5	
Oligo dT Primer (50 μmol/L)	0.5	25 pmol
Random Primer 6 mers (100 μmol/L)	0.5	50 pmol
RNA 模板	5	
PCR 用水	1.5	
总体积	10	
注：可使用其他类似的反转录试剂盒进行，反应体系和反应参数可做相应调整。		

### 8.4.2 PCR

#### 8.4.2.1 PCR 反应体系

PCR反应体系见表2。反应液的配制在冰浴上操作，每次反应同时设计阳性对照、阴性对照和空白对照，其中阳性对照以含有目的病原微生物的组织或培养物提取的核酸作为阳性对照模板，其中阴性对照以不含有目的病原微生物（可以是正常动物组织或正常培养物）作为阴性对照模板，空白对照即为不加模板对照（No Template Control, NTC），即在反应中用水来代替模板。

表2 PCR 反应体系配制表

反应组份	用量/μL	终浓度
2×buffer	10	1×
引物组合物混合液 (10 μmol/L)	2	200 nmol/L
DNA/cDNA 模板	4	
PCR 用水	4	
总体积	20	

#### 8.4.2.2 PCR 反应参数

PCR反应参数见表3。

表3 PCR 反应参数

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 ℃	2 min	1
变性	95 ℃	30 s	35
退火	60 ℃	90 s	
延伸	72 ℃	30 s	
延伸	72 ℃	10 min	1

注：可使用其他类似的一步法或两步法RT-PCR试剂盒进行，反应体系和反应参数可做相应调整。

## 8.5 PCR 产物杂交

8.5.1 所有试剂恢复到室温，所有的操作均应避光，可选用不透明离心管或用铝铂膜包裹遮光的离心管进行操作。

8.5.2 取出装有偶联好探针微球的贮存管，于旋涡震荡器上震荡，再用 40 khz 超声波仪处理 20 s，使微球充分分散。

8.5.3 荧光编码微球工作液的制备：将 2 500 个/μL 荧光编码微球用 1×Tm Hybrdization Buffer 稀释到 1 μL 约含有 125 个/种荧光编码微球。

8.5.4 SA-PE 工作液制备：将 1 mg/mL SA-PE 用 1×Tm Hybrdization Buffer 稀释到 10 μg/μL。

8.5.5 充分重悬荧光编码微球工作液，每个样品孔和对照孔加入微球工作液 20 μL，随后样品孔中加入 5 μL PCR 产物，对照孔中也分别加入 5 μL PCR 阳性对照、阴性对照和空白对照产物，最后加入 75 μL 的 SA-PE 工作液，充分混匀，于金属加热器中 37 ℃~45 ℃ 孵育 25 min~45 min。

## 8.6 液相芯片检测仪读取荧光

8.6.1 在 PCR 扩增进行时，打开液相芯片检测所有相关仪器，并将仪器的上样加热底板预先加热至 45 ℃。

8.6.2 按照液相芯片检测仪操作说明书，进行各个参数的设置。

8.6.3 每个样品上机时，应同时选择特定编码微球，并填写每种荧光微球对应病原微生物名称。

8.6.4 检测体积为 75 μL，流速为快速，每种荧光微球设置计数为至少 50 个，计数时间为 60 s。

8.6.5 取出杂交好的待检样本放入液相芯片检测仪，并在软件界面进行相应的标注。开启检测。

8.6.6 同一批样品建议在 30 min 内读取数据完毕。

## 9 结果

### 9.1 数据有效性分析

每种特定编码微球个数不少于50个，空白对照荧光强度不高于100，阴性对照荧光强度不高于200，阳性对照与自身对应寡核苷酸探针特异性杂交荧光强度高于空白对照五倍以上。

### 9.2 结果计算

液相芯片定性比值结果 (Luminex qualitative ratio result, LQRR) 等于样品校正后的荧光强度中位值 (Median fluorescence intensity, MFI) 与空白对照 MFI 的平均值 (MFIB) 的比值, 见公式 (1)。

$$LQRR = MFI / MFIB \dots\dots\dots (1)$$

式中:

LQRR——液相芯片定性比值;

MFI——检测样品荧光强度中位值;

MFIB——空白对照荧光强度中位值。

仪器检测后, 自带的数据分析软件自动按上述公式进行计算, 直接输出结果。

### 9.3 结果分析与定性判定

9.3.1 关联某种病原微生物的特定编码微球在液相芯片检测仪中获得的数值如  $LQRR \geq 3$ , 判定该样本为该种病原微生物核酸检测结果阳性。

9.3.2 关联某种病原微生物的特定编码微球在液相芯片检测仪中获得的数值如  $LQRR < 2$ , 判定该样本为该种病原微生物核酸检测结果阴性。

9.3.3 关联某种病原微生物的特定编码微球在液相芯片检测仪中获得的数值如  $2 \leq LQRR < 3$ , 判定该样本为该种病原微生物核酸检测结果可疑。可疑样品应重新进行试验, 如结果值仍介于此区间, 则判定为阴性。

## 10 防止交叉污染的措施

按照 GB/T 19495.2 中的要求执行。

地方标准信息服务平台

附录 A  
(规范性)  
溶液的配制

A.1 0.02 mol/L pH7.2 磷酸盐缓冲液 (PBS) 的配制

A.1.1 A液

0.2 mol/L磷酸二氢钠溶液: 称取磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 27.6 g, 先加适量去离子水溶解, 最后定容至1 000 mL, 混匀。

A.1.2 B液

0.2 mol/L磷酸氢二钠溶液: 称取磷酸氢二钠 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  53.6 g (或 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  71.6 g或 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  35.6 g), 先加适量去离子水溶解, 最后定容至1 000 mL, 混匀。

A.1.3 0.02 mol/L pH7.2磷酸盐缓冲液 (PBS) 的配制

取A液14 mL, B液36 mL, 加氯化钠 ( $\text{NaCl}$ ) 8.5 g, 加800 mL无离子水溶解稀释, 用HCl调pH至7.2, 最后定容至1 000 mL, 经121 °C高压灭菌15 min, 冷却备用。

A.2 无 RNase 去离子水的配制

实验用去离子水按体积比0.1%加入DEPC摇匀, 室温静置过夜, 121 °C高压灭菌15 min, 冷却备用。

A.3 1×TM 杂交缓冲液

NaCl	0.2 mol/L
Tris	0.1 mol/L
Triton X-100	0.08%

调pH至8.0过滤除菌, 4 °C保存备用。

## 附录 B

(资料性)

## 实验动物病原液相基因芯片引物

针对实验动物大、小鼠、猴、兔、禽类病原保守核酸序列设计液相基因芯片特异引物组合。

表B.1 大小鼠病原液相基因芯片引物列表

病原	序列 (5' - 3' )
小鼠脑脊髓炎病毒 (TMEV)	TTAAACAATCTACTATTCAATCAC-spacer18-GATCTAAGTYAACCGACTCC
	Bio-GAAGGAAGGGCAACACATA
小鼠肝炎病毒 (MHV)	CACTTAATTCATTCTAAATCTATC-spacer18-TGGMATCCTCAAGAAGACCACTT
	Bio-ATGCCMGAAAACCARGAGTAATG
小鼠诺如病毒 (MNV)	TACTTCTTTACTACAATTTACAAC-spacer18-TCTGYCTGCGCTGGGTGC
	Bio-GCTGCGCCATCACTCATCC
呼肠孤病毒 III 型 (REO3)	CACTACACATTTATCATAACAAAT-spacer18- CCTCGCTACGTGAAGAAGT
	Bio-CATCATCGAGTCCCTGGGTG
小鼠细小病毒 MVM 株 (MVM)	TACTACTTCTATAACTCACTTAAA-spacer18-TTGTTCCACCACCCTAAATG
	Bio-GGTTTGTGTTCAAGATCTAGTTC
小鼠细小病毒 MPV 株 (MVM)	ACTTATTTCTCACTACTATATCA-spacer18-CACCAGCAACAGACAACCAA
	Bio-TGAATGCGTTGAGTGTCTC
淋巴细胞脉络丛脑膜炎 病毒 (LCMV)	AATAACAACACTACTATATCATAAC-spacer18-GAGTCCAGAAGCTTTCTGATGTCAT
	Bio-CAAGTATTCACACGGCATGGAT
汉坦病毒 (HV)	ATACTTTACAAACAATAACACAC-spacer18-GGACACAATCAATGGGGATACAAC
	Bio-CCATATCATCCCCTAAGTGGAA
仙台病毒 (SV)	CTAAACATACAAATACACATTTCA - spacer18-CCCAGCCATATACTCAGTCGTGCT
	Bio-TCCACAACCTTTTGTGACAGGACAC
小鼠肺炎病毒 (PVM)	ATCTCAATTACAATAACACACAAA-spacer18-GATCACAGAGCCCGTCAAAAAT
	Bio-CATATAACATCCAATACGAGTTTGAA
小鼠流行性腹泻病毒 (EDIM)	AATAACAACACTACTATATCATAAC-spacer18-ATCAAGCAGATTGGAAC
	Bio-GATTCAGTTCGCAATGTAAGTCC

表B.1 大小鼠病原液相基因芯片引物列表（续）

病原	序列（5' - 3'）
肺支原体 (Mpul)	TACTTCTTTACTACAATTTACAAC-spacer18-AGCGTTTGCTTCACTTTGAA
	Bio-GGGCATTTCCTCCCTAAGCT
鼠痘病毒 (ECT)	CACTTAATTCATTCTAAATCTATC-spacer18-TACGGTGTATATGGCTACTCA
	Bio-ACTGCTGCTTCTATACTCG
小鼠腺病毒 (MAD)	TTAAACAATCTACTATTCAATCAC-spacer18-AGACTCACACTGCGTATAGTCC
	Bio-CCAGAACTCGGTTATCCCA
小鼠巨细胞病毒 (MCMV)	CTTAAACTCTACTACTTCTAATT-spacer18-GCCCTTTCATCCCTTACCT
	Bio-GACCTCCATGCTCTCATGC
多瘤病毒 (POLY)	ACTTATTTCTTCACTACTATATCA-spacer18-CCATGCTCCCTTCTATGCGAT
	Bio-TCAGTCAGCCATAGATGCAA
大鼠冠状病毒 (RCV)	CACTTAATTCATTCTAAATCTATC-spacer18-TGGMATCCTCAAGAAGACCACTT
	Bio-ATGCCMGA AAAACCARGAGTAATG
大鼠泰勒病毒 (RTV)	ACTTATTTCTTCACTACTATATCA-spacer18-GGAAACTTAGAGCAGACATCG
	Bio-TCCACAGAGAACAACCATCG
大鼠细小病毒 RMV 株 (RMV)	TACTTCTTTACTACAATTTACAAC-Spacer18-ACACCATGCCAACTGCAGATG
	Bio-ATTGTTCACTCCCTGTGTTGTGTT
大鼠细小病毒 RRV 株 (RPV)	AATAACAACCTCACTATATCATAAC-Spacer18-GATGATAAGCGGTTCAAGG
	Bio-AAGAGCTCCGGTATCTCTGTC
大鼠细小病毒 H-1 株 (H1)	CTAAACATACAAATACACATTTCA-Spacer18-CTCTAGCAACTCTGCTGAAG
	Bio-CAGTTATTCCTTGGAGGCAT
大鼠细小病毒 KRV 株 (KRV)	ATTAAACAACCTTAACTACACAA-Spacer18-AACCAGACGCTGGAATCGCTAA
	Bio-TGTAGCAGTCTAGATGCATGA
IC (内标基因)	ATTAAACAACCTTAACTACACAA-spacer18-CGCAGAATCGCAAATACAC
	Bio-TAACAATAAGCTCGCAGTCG

表B.2 兔病原液相基因芯片引物列表

病原	序列 (5' - 3' )
兔出血热病毒 (RHDV)	CTTAAACTCTACTTACTTCTAATT-spacer18-CTCTCCACAAAATAACCCATTCA
	Bio-CCAACCTGGTCCAATCTCG
兔轮状病毒 (RRV)	TACTACTTCTATAACTCACTTAAA-spacer18-ATGGTTCGCTTGTGTCTTAGTTG
	Bio-ATGCGTTGGGTGTAGTTCCTGTA
仙台病毒 (SV)	CTAAACATACAAATACACATTTCA-spacer18-TGACAACAAACGGAGTAAACGC
	ACCATAGGTCCAAACAGCCATTC

表B.3 猴病原液相基因芯片引物列表

病原	序列 (5' - 3' )
猴免疫缺陷病毒 (SIV)	CACTTAATTCATTCTAAATCTATC-spacer18-ACGACCCGGCGGAAAGAAAAAGT
	Bio-TGCACCAGATGACGCAGACAGT
猴 T 细胞淋巴白血病毒 (STLV)	TTAACAATCTACTATTCATCAC-spacer18-GTGCCAATCATGGACCTGCC
	Bio-TCCTGGAGCGTCGATTAGAAGG
猴逆转录病毒 (SRV)	ACTTATTTCTTCACTACTATATCA-spacer18-AYGGGGCTACTGCYCCATA
	Bio-GCCATTACCKGCTGTGTGATT

表B.4 禽病原液相基因芯片引物列表

病原	序列 (5' - 3' )
禽流感病毒 (AIV)	TACTACTTCTATAACTCACTTAAA-spacer18-ATGAGTCTTCTACCCGAGG
	Bio-TCAGAGGTGACAGGATTG
新城疫病毒 (NDV)	ACTTATTTCTTCACTACTATATCA-spacer18-CTCATCTCAGACAGGGTCAATC
	Bio-ATGGAGTCACCAAGGGG
传染性支气管炎病毒 (IBV)	ATTAAACAACCTTAACTACACAA-spacer18-AATCAGGCTCAAGTTCAAGGC
	Bio-GCATTGTTCTCTCCTCATC
传染性喉气管病毒 (ILTV)	ATCTCAATTACAATAACACACAAA-spacer18-GCAGCGAAAAGAAGGC
	Bio-TCATCGTGCTCGGTGTCC
鸡毒支原体 (MG)	CACTACACATTTATCATAACAAAT-spacer18-ATCTAAAACCGTGTGCTAA
	Bio-AGGAGGTAATCCACCCCA

表B.4 禽病原液相基因芯片引物列表（续）

病原	序列（5' - 3'）
滑液囊支原体 （MS）	CTTTCTTAATACATTACAACATAC-spacer18-CCTTTTAGACTGGAATAACGGT
	Bio-GCTAATGTTCCGCACCC
鸡传染性贫血病毒 （CAV）	ATACTTACAACAATAACACAC-spacer18-GCTCTCCAAGAAGATACTCCA
	Bio-GCATTGCGCGCAGCCACAC
马立克氏病毒 （MDV）	TACTTAAACATACAAACTTACTCA-spacer18-CCCATTCCCTCTTCTGCC
	Bio-GCTGAGCGTAAACCGTC
传染性法氏囊病病毒 （IBDV）	TACTTCTTACTACAATTACAAC-spacer18-ATGCGGAGCCTTCTGA
	Bio-ATTAGCCCTGACCCTGTG
禽呼肠孤病毒（REO）	ACTTATTTCTTCACTACTATATCA-spacer18-GGATTCCGTCTCCATTCT
	Bio-GAGTTTCCGTCAACCGTA
网状内皮增生症病毒 （REV）	CTTAAACTCTACTTACTTCTAATT-spacer18-GACTGCCTTGTGACTGCT
	Bio-ACTCCCACTGTTGTCTAAATC
禽白血病病毒 （ALV）	CTAAACATACAAATACACATTTCA-spacer18-CTGATGCAACAACCAGGAAA
	Bio-GCAGTAACATTAGTGACATACCC
禽腺病毒 （AAV）	CAAACAAACATTCAAATATCAATC-spacer18-GCGCCBACYGVAAAYGTCA
	Bio-TTGAARGAVGGHCCBCKGTC
禽脑脊髓炎病毒 （AEV）	AATAACAACACTACTATACATAAC-spacer18-GTTGAGGATAAGGAACCACAGG
	Bio-TTACCAGGAGCTAATTCAGGGA

地方标准信息服务平台

广东省地方标准  
实验动物 病原核酸液相芯片法定  
性分析

DB44/T 2338—2021

\*

广东省标准化研究院组织印刷  
广州市海珠区南田路 563 号 1304 室  
邮政编码：510220  
电话：020-84250337