

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2059—2011

灰飞虱携带水稻条纹病毒检测技术 免疫斑点法

Technical specification for the detection of rice stripe virus in small
brown planthopper—Dot immunobinding assay

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国农业部 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种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：江苏省农业科学院植物保护研究所。

本标准主要起草人：周益军、周彤、范永坚、程兆榜。

灰飞虱携带水稻条纹病毒检测技术 免疫斑点法

1 范围

本标准规定了灰飞虱携带水稻条纹免疫斑点检测方法。

本标准适用于灰飞虱携带水稻条纹病毒的检测。

2 原理

硝酸纤维素膜在中性条件下有效地吸附生物大分子,将抗原吸附于硝酸纤维素膜后,进行抗原抗体反应,当抗体与膜上的抗原结合后,通过再次结合有标记的抗抗体,经底物作用使斑点着色。

3 试剂

除非另有说明,均使用分析纯试剂,水为蒸馏水。

3.1 碳酸钠(Na_2CO_3)

3.2 碳酸氢钠(NaHCO_3)

3.3 氯化钠(NaCl)

3.4 氯化钾(KCl)

3.5 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)

3.6 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)

3.7 盐酸(HCl)

3.8 无水乙醇(EtOH)

3.9 过氧化氢(H_2O_2)

3.10 4-氯-1-萘酚

3.11 吐温 20($\text{Tween}-20$)

3.12 脱脂奶粉

3.13 小牛血清蛋白(BSA)

3.14 辣根过氧化物酶

3.15 磷酸盐缓冲液(0.02 mol/L):准确称取 40.00 g 氯化钠(3.3)、1.00 g 氯化钾(3.4)、1.00 g 磷酸二氢钾(3.5)和 15.00 g 磷酸氢二钠(3.6)于 2 500 mL 的容量瓶中加水定容至刻度,用盐酸(3.7)调节 pH 至 7.5,4℃保存;

3.16 磷酸盐吐温 20 缓冲液(0.01 mol/L):准确称取 40.00 g 氯化钠(3.3),1.00 g 氯化钾(3.4)、1.00 g 磷酸二氢钾(3.5)和 15.00 g 磷酸氢二钠(3.6)于 5 000 mL 的容量瓶中加水定容至刻度,用盐酸(3.7)调节 pH 至 7.5,再加入 2.5 mL 吐温 20(3.11),4℃保存。

3.17 包被缓冲液(0.05 mol/L):准确称取 1.59 g 碳酸钠(3.1)和 2.93 g 碳酸氢钠(3.2)于 1 000 mL 的容量瓶中加水定容至刻度,用盐酸(3.7)调节 pH 至 9.6,4℃保存。

3.18 1%脱脂奶粉封闭液:准确称取 1.00 g 脱脂奶粉(3.12)加入 100 mL 磷酸盐吐温 20 缓冲液(3.16),混匀后 4℃保存。

3.19 2%小牛血清蛋白封闭液:准确称取 0.2 g 小牛血清蛋白(3.13)加入 100 mL 磷酸盐吐温 20 缓冲液(3.16),混匀后 4℃保存。