

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1151.6—2004

SN/T 1151.6—2004

对虾白斑病毒斑点杂交和原位杂交 检测操作规程

Protocol of dot blot and in situ hybridization for white spot virus

中华人民共和国出入境检验检疫
行业标准
对虾白斑病毒斑点杂交和原位杂交
检测操作规程

SN/T 1151.6—2004

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.bzcbbs.com

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 25 千字
2005年2月第一版 2005年2月第一次印刷

*

书号: 155066·2-16100 定价 10.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



SN/T 1151.6-2004

2004-11-17 发布

2005-04-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

A. 29 10×Buffer IV

Tris Base	12.1 g
EDTA·2H ₂ O	3.7 g
加双蒸水定容至	1 000 mL

用盐酸调 pH 至 8.0, 高压灭菌。4℃ 保存。

A. 30 1×Buffer IV

10×Buffer IV	100 mL
加双蒸水	900 mL

0.45 μm 滤膜过滤除菌。
4℃ 保存。

A. 31 10%聚乙烯醇(Polyvinyl Alcohol)溶液

PVA(30000~70000 MW)	10 g
双蒸水	100 mL

搅拌使之溶解, 如有必要需加热。分装于无菌离心管, 10 mL/管。-20℃ 保存。

A. 32 显影液 II (Development Solution)

1×Buffer III	90 mL
10%PVA	10 mL
左旋咪唑(Levamisole)	24 mg

4℃ 保存
用前在每 1 mL 以上混合液中加入 4.5 μL NBT 和 3.5 μLBCIP。

A. 33 0.5%俾斯麦棕-Y(Bismark Brown Y)溶液

俾斯麦棕-Y(Bismark Brown Y)	2.5 g
双蒸水	500 mL

把染料溶于水中, 过滤, 室温保存。

前 言

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位: 中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国青岛出入境检验检疫局、中国水产科学研究院黄海水产研究所。

本标准主要起草人: 刘荭、雷质文、江育林、杨冰、高隆英、史秀杰、黄健。

本标准首次发布的出入境检验检疫行业标准。

A. 14 1×Buffer III

10×Buffer III	100 mL
双蒸水	900 mL

0.45 μm 滤膜过滤除菌。
4℃贮存。

A. 15 75 mg/mL NBT 溶液

四氮唑蓝(NBT)	100 mg
二甲基甲酰胺(DMF)	0.933 mL
双蒸水	0.400 mL

—20℃贮存。

A. 16 50 mg/mL BCIP 溶液

5-溴-4-氯-3-吡啶磷酸-甲苯胺盐(BCIP)	100 mg
二甲基甲酰胺(DMF)	2 mL

—20℃贮存。

A. 17 显色液 I

1×Buffer III	90 mL
75 mg/mL NBT 溶液	4.5 μL
50 mg/mL BCIP 溶液	3.5 μL

4℃保存。

A. 18 Davidson's AFA 固定液

95%乙醇	330 mL
37%甲醛	220 mL
冰乙酸	115 mL
双蒸水	335 mL

室温保存。

A. 19 500 μg/mL 多聚赖氨酸包被液

多聚赖氨酸(分子量大于 150000)	5 mg
双蒸水	10 mL

溶解后,4℃保存,一周内用完。

A. 20 10×TNE

三羟甲基氨基甲烷(Tris Base)	60.57 g
氯化钠(NaCl)	5.84 g
乙二胺四乙酸(EDTA)	3.72 g
双蒸水	900 mL

用 5 mol/L 盐酸调 pH 至 7.4,定容至 1 000 mL,高压灭菌,4℃保存。

对虾白斑病毒斑点杂交和原位杂交检测操作规程**1 范围**

本标准规定了对虾白斑病毒的核酸探针检测技术——斑点杂交和原位杂交方法。
本标准适用于对虾白斑病毒的检测和鉴定。

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 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法

3 试剂和材料

- 3.1 所用水若非注明,应符合 GB/T 6682—1992 中一级水的规格。
- 3.2 若非注明,本标准使用确认为分析纯的试剂。
- 3.3 DIG 标记的核酸探针:按照国家发明专利 ZL 1 11336.4(专利权人为中国水产科学研究院黄海水产研究所)的技术提供。
- 3.4 SEMP-tris 研磨液:按照国家发明专利 ZL 1 11336.4(专利权人为中国水产科学研究院黄海水产研究所)的技术提供。
- 3.5 20×SSC:见第 A.1 章。
- 3.6 5×SSC:见第 A.2 章。
- 3.7 2×SSC:见第 A.3 章。
- 3.8 1×SSC:见第 A.4 章。
- 3.9 0.5×SSC:见第 A.5 章。
- 3.10 10×Buffer I:见第 A.6 章。
- 3.11 1×Buffer I:见第 A.7 章。
- 3.12 Buffer II(Blocking Buffer):见第 A.8 章。
- 3.13 10%十二烷基磺酸钠(SDS):见第 A.9 章。
- 3.14 2×SSC/0.1%SDS:见第 A.10 章。
- 3.15 0.1×SSC/0.1%SDS:见第 A.11 章。
- 3.16 预杂交液:见第 A.12 章。
- 3.17 10×Buffer III:见第 A.13 章。
- 3.18 1×Buffer III:见第 A.14 章。
- 3.19 碱性磷酸酶标记的 DIG 抗体:150 U(200 μL),德国 Boehringer Mannheim 公司产品或相当产品。
- 3.20 75 mg/mL 氮蓝四唑溶液:见第 A.15 章。
- 3.21 50 mg/mL 5-溴-4-氯-3-吡啶磷酸-甲苯胺盐溶液:见第 A.16 章。
- 3.22 显色液 I:见第 A.17 章。
- 3.23 Davidson's AFA 固定液:见第 A.18 章。