

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1146.2—2009

烟草环斑病毒分子生物学检测方法

Molecular detection of Tobacco ringspot virus

2009-09-02 发布

2010-03-16 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准的附录 B、附录 C 和附录 D 均为规范性附录,附录 A 为资料性附录。

本标准由认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准由中华人民共和国上海出入境检验检疫局负责起草、中国检验检疫科学研究院参加起草。

本标准主要起草人:杨翠云、于翠、魏梅生、高辉、乔艳艳。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

烟草环斑病毒分子生物学检测方法

1 范围

本标准规定了烟草环斑病毒分子生物学检测的基本原则和方法。

本标准适用于无性繁殖材料、组培苗、鳞球茎和种子苗木中携带的烟草环斑病毒的检测。

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。

SN/T 1146 烟草环斑病毒检疫鉴定方法

3 原理

3.1 烟草环斑病毒学名及分类地位

中文名:烟草环斑病毒

英文名:Tobacco ringspot virus

缩写:TRSV

分类地位:豇豆花叶病毒科(Comoviridae),线虫传多面体病毒属(*Nepovirus*)。

3.2 烟草环斑病毒基因组

基因组含两条 ssRNA。RNA-1 长 7.514 kb;RNA-2 长 3.929 kb,外壳蛋白基因 1.548 kb。

其他资料参见附录 A。

4 仪器设备、用具和试剂

4.1 仪器设备

PCR 仪、实时荧光定量 PCR 仪、超净工作台、电子天平(1/10 000 g)、电泳仪、电泳槽、凝胶成像系统、水浴锅、高速冷冻离心机、-80 °C 超低温冰箱、高压灭菌锅、制冰机、微波炉、漩涡振荡器。

4.2 用具

可调式微量移液器(2 μ L、10 μ L、100 μ L、200 μ L、1 000 μ L、5 000 μ L)及相应的无 RNase 吸头、无 RNase 离心管、PCR 管和研钵等。

4.3 试剂

RT-PCR 试剂(见附录 B)、IC-RT-PCR 试剂(见附录 C)和实时荧光 RT-PCR 试剂(见附录 D)。

5 病毒检测

抽样与制样方法按照 SN/T 1146 规定的方法执行。

采用 RT-PCR(见附录 B)、IC-RT-PCR(见附录 C)和实时荧光 RT-PCR(见附录 D)进行病毒检测。

6 结果判定

样品经 RT-PCR、IC-RT-PCR 和实时荧光 RT-PCR 三种方法之一检测为阴性时,证明样品不携带烟草环斑病毒。

样品经 RT-PCR 和 IC-RT-PCR 检测为阳性,需要进行序列测定,如果序列测定结果证实与所检测