

ICS 65.160
X 85
备案号:29841—2010

YC

中华人民共和国烟草行业标准

YC/T 365—2010

YC/T 365—2010

烟草病毒的测定 逆转录-聚合酶链反应法

Tobacco virus detection—Reverse transcription-polymerase chain reaction

中华人民共和国烟草
行业标准
烟草病毒的测定
逆转录-聚合酶链反应法
YC/T 365—2010

*

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.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 21 千字

2011年1月第一版 2011年1月第一次印刷

*

书号:155066·2-21392 定价 21.00 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



YC/T 365-2010

2010-10-11 发布

2010-10-15 实施

国家烟草专卖局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由国家烟草专卖局提出。

本标准由全国烟草标准化技术委员会农业分技术委员会(SAC/TC 144/SC 2)归口。

本标准起草单位：中国烟草总公司黑龙江省公司牡丹江烟草科学研究所。

本标准主要起草人：颜培强、武常青、闫新甫、万秀清、乔婵、孙剑萍、郭兆奎、李丽杰、邱恩建、王春军、元野、刘德育、陈荣平、黄磊。

附录 F
(资料性附录)
扩增产物检测

称 1.500 g 琼脂糖(5.22)于 100 mL 三角瓶中,加 1×TBE 电泳缓冲液(附录 B 的第 B.1 章) 100 mL,加热至琼脂糖完全溶解;加溴乙锭 5 μL,摇匀,冷却至 45 °C 后倒入已经放好梳子的胶模中,琼脂糖完全凝结后拔出样梳子;将凝胶放入已倒入 1×TBE 电泳缓冲液的电泳仪(6.3)中,取 10 μL 扩增产物加上样缓冲液 0.5 μL(附录 B 的第 B.2 章),点样,并点入 DNA 标准分子量;电泳电压为 1 V/cm~10 V/cm,待溴酚蓝(5.23)电泳到凝胶的中间位置时,停止电泳,取出凝胶,用紫外分析仪(6.4)观察电泳结果。

烟草病毒的测定
逆转录-聚合酶链反应法

1 范围

本标准规定了用逆转录-聚合酶链反应法测定烟草种子、幼苗及鲜烟叶样品中的烟草花叶病毒(TMV)、马铃薯 Y 病毒(PVY)、黄瓜花叶病毒(CMV)和烟草蚀纹病毒(TEV)。

本标准适用于烟草种子、幼苗和鲜烟叶样品中烟草花叶病毒(TMV)、马铃薯 Y 病毒(PVY)、黄瓜花叶病毒(CMV)和烟草蚀纹病毒(TEV)的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 24310—2009 烟草及烟草制品 转基因检测方法

3 术语和定义

GB/T 24310—2009 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用,以下重复列出了 GB/T 24310—2009 中的一些术语和定义。

3.1

聚合酶链式反应扩增 **polymerase chain reaction amplification**

模板 DNA 序列在含有 4 种脱氧核糖核酸(dNTPs)、引物、DNA 聚合酶等的反应体系中,在仪器中通过多次高温变性、退火和延伸的循环过程,最终使目标 DNA 片段以几何倍数扩增。

[GB/T 24310—2009,定义 3.6]

3.2

逆转录-聚合酶链反应 **reverse transcription-polymerase chain reaction**

提取组织或细胞中的总 RNA,以其中的 mRNA 作为模板,采用 Oligo(dT₁₈)(5.1)或随机引物利用逆转录酶(5.2)反转录成 cDNA,再以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,而获得目的基因或检测基因表达。

3.3

阳性对照 **positive control**

经鉴定为含有检测目标成分的对照烟草样品。

[GB/T 24310—2009,定义 3.11]

3.4

阴性对照 **negative control**

经鉴定为不含有检测目标成分的对照烟草样品。

[GB/T 24310—2009,定义 3.12]