



中华人民共和国国家标准

GB/T 25168—2010

畜禽 cDNA 文库构建与保存技术规程

Technical regulation of farm animals cDNA library construction and preservation

2010-09-26 发布

2011-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:中国农业科学院北京畜牧兽医研究所。

本标准主要起草人:马月辉、关伟军、陆涛峰、李向臣、佟春玲、余露露、刘鹏。

畜禽 cDNA 文库构建与保存技术规程

1 范围

本标准规定了畜禽 cDNA 文库构建方法。

本标准适用于猪、牛、羊、马、驴、鸡、鸭、鹅等畜禽 cDNA 文库构建与保存。

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 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

cDNA complementary deoxyribonucleic acid

以成熟 mRNA 为模板,在反转录酶的作用下合成的 cDNA 链。

3.2

cDNA 文库 cDNA library

将处于特定发育阶段真核生物体的特定器官或组织中提取的总 RNA,经过反转录等一系列的生化反应合成双链 cDNA 群体后,再插入到适当的载体上,经转化寄主菌株构成特定的 cDNA 克隆群体。

3.3

寡核苷酸 oligonucleotide

一类只有 20 个以下碱基对的短链核苷酸的总称,常用作探针确定 DNA 或 RNA 的结构。

3.4

噬菌斑 plaque

被噬菌体感染的细菌所释放的子代噬菌体,会继续感染周围的细胞,致使在琼脂平板上生长的菌苔中有大量的细胞发生裂解,形成的透明区域。

4 试剂及溶液配制

除另有规定外,试剂为分析纯或生化试剂。实验用水符合 GB/T 6682 一级用水的要求。

4.1 焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC)处理水

在 1 000 mL 去离子水中加入 1 mL DEPC,37 °C 静置 12 h,高压灭菌(120 °C 30 min)。

4.2 2 mol/L MgSO₄

称取 246.50 g MgSO₄ · H₂O,加 400 mL 双蒸水(double distilled H₂O, ddH₂O)溶解后,定容到 500 mL,高压灭菌。

4.3 10 mmol/L MgSO₄

量取 1 mL 2 mol/L MgSO₄ 加 ddH₂O 定容到 200 mL,高压灭菌,30 min。

4.4 1 mol/L Tris-Cl(pH7.5)

称取 121.14 g Tris,碱溶于 800 mL ddH₂O 中,调 pH 至 7.5,定容到 1 L,高压灭菌。

4.5 SM 缓冲液

称取 5.80 g NaCl、2.00 g MgSO₄ · 7H₂O,量取 50 mL 1 mol/L Tris-Cl(pH7.5)和 5 mL 2%(质