

中华人民共和国国家标准

农业部 2406 号公告—7—2016

转基因动物及其产品成分检测 DNA 提取和纯化

Detection of genetically modified animals and derived products—
DNA extraction and purification

2016-05-23 发布

2016-10-01 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。

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。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会(SAC/TC 276)归口。

本标准起草单位:农业部科技发展中心、中国农业科学院北京畜牧兽医研究所。

本标准主要起草人:敖红、沈平、李奎、宋贵文、崔文涛、章秋艳、周荣、金芑军、陶聪、赵为民、黄素娟、甄二东。

转基因动物及其产品成分检测 DNA 提取和纯化

1 范围

本标准规定了转基因动物及其产品中 DNA 提取和纯化的方法和技术要求。
本标准适用于转基因动物及其产品中 DNA 的提取和纯化。

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(包括所得的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

通过物理和化学方法使 DNA 从样品的不同组分中分离出来。利用不同的纯化方法,弃除样品中的蛋白质、脂肪、多糖和其他次生代谢物,以及 DNA 提取过程中加入的氯仿、异戊醇等化合物,获得纯化的 DNA。

4 主要试剂和材料

除非另有说明,仅使用分析纯试剂和重蒸馏水或符合 GB/T 6682 二级水要求的水。

- 4.1 异戊醇($C_5H_{12}O$)。
- 4.2 氯仿($CHCl_3$)。
- 4.3 乙醇(C_2H_5OH),体积分数为 95%。
- 4.4 二水乙二铵四乙酸二钠盐($Na_2EDTA \cdot 2H_2O, C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$)。
- 4.5 十二烷基硫酸钠($C_{12}H_{25}O_4SNa, SDS$)。
- 4.6 盐酸(HCl),体积分数为 37%。
- 4.7 异丙醇 $[CH_3CH(OH)CH_3]$ 。
- 4.8 蛋白酶 K($>20 U/mg$)。
- 4.9 乙酸钾(KAc)。
- 4.10 氯化钠(NaCl)。
- 4.11 氢氧化钠(NaOH)。
- 4.12 三羟甲基氨基甲烷($C_4H_{11}NO_3, Tris$)。
- 4.13 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)。
- 4.14 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。
- 4.15 甲醛(HCHO),体积分数为 35%~40%。
- 4.16 聚乙二醇辛基苯基醚(Triton-x100)。
- 4.17 10 mol/L 氢氧化钠溶液:在 160 mL 水中加入 80.0 g 氢氧化钠(NaOH),溶解后再加水定容至 200 mL。
- 4.18 0.5 mol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(pH 8.0):称取 18.6 g 乙二铵四乙酸二钠($EDTA - Na_2$),加入 70 mL 水中,再加入适量氢氧化钠溶液,加热至完全溶解后,冷却至室温,用氢氧化钠溶液(4.17)调