

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2497.15—2010

进出口危险化学品安全试验方法 第 15 部分:PCR-SSCP 实验

Test method of import and export dangerous chemicals—
Part 15: Test of PCR-SSCP

2010-03-02 发布

2010-09-16 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

SN/T 2497《进出口危险化学品安全试验方法》系列标准共分为 29 部分：

- 第 1 部分：体内哺乳动物肝细胞程序外 DNA 合成(UDS)试验；
- 第 2 部分：空斑形成细胞(PFC)试验；
- 第 3 部分：大型溞繁殖试验；
- 第 4 部分：酿酒酵母有丝分裂重组试验；
- 第 5 部分：睾丸细胞 UDS 试验；
- 第 6 部分：哺乳类动物细胞姐妹染色单体互换体外试验；
- 第 7 部分：小鼠耳肿胀试验；
- 第 8 部分：腮腺淋巴结试验；
- 第 9 部分：血清溶血素测定试验；
- 第 10 部分：T 淋巴细胞增殖功能测定试验；
- 第 11 部分：种系突变试验；
- 第 12 部分：单细胞凝胶电泳分析试验；
- 第 13 部分：荧光原位杂交试验；
- 第 14 部分：SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳试验；
- 第 15 部分：PCR-SSCP 实验；
- 第 16 部分：Western-Blot 实验；
- 第 17 部分：哺乳动物行为毒理学试验；
- 第 18 部分：DNA 加合物的检测方法；
- 第 19 部分：Northern Blot 实验；
- 第 20 部分：Bradford 法测定蛋白质含量；
- 第 21 部分：琼脂糖凝胶电泳试验；
- 第 22 部分：DNA 的 T_m 值测定方法；
- 第 23 部分：细胞器的分离实验方法；
- 第 24 部分：细胞免疫功能体外检测方法；
- 第 25 部分：体液免疫功能试验；
- 第 26 部分：巨噬细胞功能试验；
- 第 27 部分：流式细胞术检测凋亡；
- 第 28 部分：穿梭质粒在突变检验中的应用；
- 第 29 部分：生化需氧量(BOD)测定。

本部分为 SN/T 2497 系列标准的第 15 部分。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分负责起草单位：中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国湖南出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：于艳军、王利兵、王华、陈春、李学洋、赵黎华。

本部分系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

进出口危险化学品安全试验方法

第 15 部分:PCR-SSCP 实验

1 范围

SN/T 2497 的本部分规定了进出口危险化学品 PCR-SSCP 实验的主要试剂和材料、主要仪器设备、试验步骤和试验结果。

本部分适用于可能引起 DNA 片段中碱基突变的进出口危险化学品的筛查。

2 术语、定义和缩略语

2.1 术语和定义

下列术语和定义适用于本部分。

2.1.1

基因突变 gene mutation

由于 DNA 分子中发生碱基对的增添、缺失或改变而引起的基因结构的改变。

2.2 缩略语

下列缩略语适用于本部分。

2.2.1

PCR 聚合酶链式反应

2.2.2

SSCP 单链构象多态性

2.2.3

TEMED N,N,N',N'-四甲基乙二胺

3 原理

单链 DNA 片段呈复杂的空间折叠构象,这种立体结构主要是由其内部碱基配对等分子内相互作用力来维持的,当有一个碱基发生改变时,会或多或少地影响其空间构象,使构象发生改变,空间构象有差异的单链 DNA 分子在聚丙烯酰胺凝胶中受排阻大小不同。因此,通过非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳可以非常敏锐地将构象上有差异的分子分离开。该方法为单链构象多态性分析。将 SSCP 用于检查 PCR 扩增产物的基因突变,即为 PCR-SSCP 技术。

4 试剂和材料

除另有规定外,所有试剂均为分析纯,实验用水为灭菌蒸馏水或超纯水。

4.1 30%丙烯酰胺:丙烯酰胺 29 g,N,N'-亚甲双丙烯酰胺 1 g,加蒸馏水至 60 mL,加热至 37 °C 溶解,补加水至终体积为 100 mL,过滤除菌。

4.2 5×TBE:54 g Tris 碱,27.5 g 硼酸,20 mL 0.5 mmol/L EDTA,调节 pH 值至 8.0。

4.3 10%过硫酸铵:1 g 过硫酸铵溶于 10 mL 水中,4 °C 保存数周。

4.4 TEMED。

4.5 6×上样缓冲液:0.25%溴酚蓝,0.25%二甲苯青 FF,30%甘油水溶液,4 °C 保存。