



中华人民共和国国家标准

GB/T 19495.3—2004

转基因产品检测 核酸提取纯化方法

Detection of genetically modified organisms and derived products—
Nucleic acid extraction

2004-04-13 发布

2004-04-13 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

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原则	1
4 实验室通用要求	1
5 提取步骤	1
6 测试报告	4
附录 A (规范性附录) 酚-三氯甲烷法提取 DNA	5
附录 B (规范性附录) PVP 法提取 DNA	11
附录 C (规范性附录) CTAB 法提取 DNA	13
附录 D (规范性附录) 硅土法提取 DNA	16
附录 E (规范性附录) 胍-三氯甲烷法提取 DNA	18
附录 F (资料性附录) 提取 DNA 方法应用实例	20
参考文献	22

前 言

GB/T 19495《转基因产品检测》为系列标准：

- GB/T 19495.1—2004 转基因产品检测 通用要求和定义；
- GB/T 19495.2—2004 转基因产品检测 实验室技术要求；
- GB/T 19495.3—2004 转基因产品检测 核酸提取纯化方法；
- GB/T 19495.4—2004 转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法；
- GB/T 19495.5—2004 转基因产品检测 核酸定量 PCR 检测方法；
- GB/T 19495.6—2004 转基因产品检测 基因芯片检测方法；
- GB/T 19495.7—2004 转基因产品检测 抽样和制样方法；
- GB/T 19495.8—2004 转基因产品检测 蛋白质检测方法。

本部分引用了 EN ISO/DIS 21571 中的部分内容。

本部分的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 和附录 E 为规范性附录，附录 F 资料性附录。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分由中华人民共和国质量监督检验检疫总局批准发布。

本部分起草单位：中华人民共和国山东出入境检验检疫局、中华人民共和国汕头出入境检验检疫局、中华人民共和国广州出入境检验检疫局、国家质量监督检验检疫总局动植物检疫实验所、中国农科院生物技术所、山东农科院植保所。

本部分主要起草人：高宏伟、相大鹏、覃文、朱水芳、陈长法、蔡颖、许业莉、庄逸林、梁希扬、甄宇江、金芫军、路兴波。

本部分系首次发布的国家标准。

转基因产品检测 核酸提取纯化方法

1 范围

GB/T 19495 的本部分规定了转基因产品中 DNA 提取纯化方法以及 DNA 溶液浓度测定的基本要求。

本部分适用于转基因食品等加工产品,也适用于转基因农产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 19495 的本部分的引用而成为本部分的条款。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部分,然而,鼓励根据本部分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部分。

GB/T 19495.1—2004	转基因产品检测	通用要求和定义
GB/T 19495.2—2004	转基因产品检测	实验室技术要求
GB/T 19495.5—2004	转基因产品检测	核酸定量 PCR 检测方法
GB/T 19495.7—2004	转基因产品检测	抽样和制样方法

3 原则

3.1 一般性原则

核酸提取的目的是提供合适的用于后续分析的 DNA。DNA 的质量包括提取的 DNA 分子的平均长度,化学纯度以及 DNA 序列及双螺旋的完整性,例如,DNA 碱基的链内、链间的联系,单链间隙的联系等。而且,这些情况是序列特异性的,因此在基因组中不是随机分布的。

3.2 提取

DNA 提取的基本原则是释放样品中的 DNA,随后纯化 DNA 去除 PCR 反应抑制剂。附录 A 中不同的 DNA 提取纯化方法适用于不同的样品。

DNA 定量有助于后续的 PCR 分析,可以通过物理方法(测量特定波长下的光吸收),化学-物理方法(结合可以发荧光的物质),酶法(生物荧光检测)或者定量 PCR 方法。后者最适用于多组分样品以及含量低或已降解的 DNA。

4 实验室通用要求

随机的 DNA 污染来源于灰尘及气溶胶。因此,实验室工作区域的组织以及良好的实验操作(GLP)基于:

- 实验操作中每一步骤的系统控制;
- 样品操作的“单向流动”原则。后者可以保证被分析的 DNA 以及 PCR 产生的 DNA 保持分离性。具体要求应符合 GB/T 19495.2—2004 中的规定。

5 提取步骤

5.1 测试样品的准备

5.1.1 一般性要求

除了处于食物和(或)饲料链起始端的农产品和粗加工材料(如粉碎的产品),大多数工业加工的食