



中华人民共和国国家标准

GB/T 30988—2014

多酚类植物基因组 DNA 提取纯化 及测试方法

Methods of genomic DNA extraction from plants with high levels of polyphenols

2014-07-24 发布

2015-03-01 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

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 缩略语	1
4 原理	1
5 实验室通用要求	2
6 试剂与溶液	2
7 仪器和设备	2
8 提取步骤	3
9 DNA 纯度、浓度测试	4

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国测试技术研究院提出。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会 (SAC/TC 387) 归口。

本标准起草单位:中国测试技术研究院、中测测试科技有限公司。

本标准主要起草人:谭和平、沈兴中、唐祥凯、周李华、孙登峰。

多酚类植物基因组 DNA 提取纯化 及测试方法

1 范围

本标准规定了以茶树为代表的多酚类植物基因组 DNA 提取纯化方法以及 DNA 纯度、浓度测试方法。

本标准适用于茶树、马铃薯、樱桃、葡萄以及其他富含多酚类的植物的植物基因组 DNA 提取及纯化。

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(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和实验方法

GB/T 19495.3—2004 转基因产品检测 核酸提取纯化方法

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Tris:三(羟甲基)氨基甲烷

SDS:十二烷基磺酸钠

PVP:聚乙烯吡咯烷酮

RNase A:核糖核酸酶 A

FF:二甲苯青

EDTA:乙二胺四乙酸

TE:三(羟甲基)氨基甲烷 - 乙二胺四乙酸

4 原理

4.1 提取纯化

在液氮条件下,通过物理研磨方法破碎多酚类植物叶片的细胞,利用抗氧化剂防止多酚类化合物氧化褐变,同时利用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)的粘接性去除多酚类化合物及其他次生代谢物等杂质,然后利用化学方法使 DNA 从植物细胞中释放出来,再弃除 DNA 中的蛋白质等杂质,以及 DNA 提取过程中加入的异戊醇、异丙醇、乙醇等有机溶剂,最后得到纯的 DNA。

4.2 纯度测试

在 pH 7~8.5 下,根据 DNA 在 260 nm 处有吸收高峰,蛋白质在 280 nm 处有吸收高峰,硫氰酸盐、碳水化合物(糖类)在 230 nm 处有吸收高峰,酚类物质在 270 nm 处有吸收高峰的特性,利用 A_{260}/A_{280} 、