

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 674—2003

转基因植物及其产品检测 DNA 提取和纯化

Detection of genetically modified plant organisms and
derived products—DNA extraction and purification

2003-04-01 发布

2003-05-15 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由农业部科技教育司提出。

本标准起草单位：中国农业科学院生物技术所、中国农业科学院植物保护研究所、上海市农业科学院、农业部科技发展中心、中国农业大学。

本标准主要起草人：贾士荣、金芑军、张大兵、彭于发、黄昆仑、李宁、汪其怀、罗云波。

本标准首次发布。

转基因植物及其产品检测

DNA 提取和纯化

1 范围

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

NY/T 672 转基因植物及其产品检测 通用要求

NY/T 673 转基因植物及其产品检测 抽样

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、多糖及其他次生代谢物,及 DNA 提取过程中加入的三氯甲烷、异戊醇、异丙醇、乙醇和乙酸钠等,获得纯化的 DNA。

4 试剂与溶液

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯试剂;配制好的溶液经高温灭菌后使用。

- 4.1 溴代十六烷基三甲胺(cetyltrimethyl ammonium bromide,CTAB)。
- 4.2 三羟甲基氨基甲烷[tris(hydroxymethyl) aminomethane,Tris]。
- 4.3 二水乙二胺四乙酸二钠(ethylenediamine tetraacetic acid,disodium salt,dihydrate,EDTA-Na·2H₂O)。
- 4.4 E-巯基乙醇(E-mercaptoethanol)。
- 4.5 三氯甲烷(chloroform)。
- 4.6 异戊醇(isoamyl alcohol)。
- 4.7 异丙醇(isopropyl alcohol)。
- 4.8 三氯甲烷+异戊醇=24+1(体积比)。
- 4.9 76%乙醇溶液:取 760 mL 无水乙醇,加水定容至 1 L。
- 4.10 70%乙醇溶液:取 700 mL 无水乙醇,加水定容至 1 L。
- 4.11 CTAB 提取缓冲液 I:配制每升 CTAB 提取缓冲液 I,应在 800 mL 去离子水中加入 46.75 g 氯化钠,摇动容器使溶质完全溶解,然后加入 50 mL 1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)[在 800 mL 去离子水中溶解 121.1 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris),冷却至室温后用浓盐酸调节溶液的 pH 值至 8.0(约需 42 mL 浓盐酸),加水定容至 1 L,分装后高压灭菌],20 mL 0.5 mol/L EDTA(pH8.0)[在 800 mL 水中加入 186.1 g 二水乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na·2H₂O),在磁力搅拌器上剧烈搅拌,用氢氧化钠(NaOH)