

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4629—2016

### 检疫性有害生物凭证标本核酸制备、 保存与管理规范

Preparation、preservation and management specification for nucleic acid of  
quarantine pest voucher specimens

2016-08-23 发布

2017-03-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准负责起草单位：中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人：宋云、陈岩、吕继洲、赵文军、吴绍强、朱水芳。

# 检疫性有害生物凭证标本核酸制备、 保存与管理规范

## 1 范围

本标准规定了检疫性有害生物凭证标本核酸保存与管理的要求。

本标准适用于检疫性有害生物凭证标本核酸保存与管理。

## 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。

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**凭证标本 voucher specimens**

具有完备的采集、鉴定信息(采集人、日期、地点、生境、鉴定人、种名等),用于物种复核、引证、溯源并永久保存的标本。

### 3.2

**核酸 nucleic acid**

核酸分子分为两类:脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA),是细胞内携带遗传信息的物质。

## 4 核酸的处理

### 4.1 常用设备

针对不同来源的材料和样品采用不同的处理方法,常用设备参见附录 A。

### 4.2 核酸来源

对于昆虫、真菌、线虫、细菌、病毒、杂草,核酸来自于有害生物个体或纯培养,病毒及植原体及难养细菌来自于染病植物材料。

### 4.3 核酸提取

#### 4.3.1 核酸的释放

##### 4.3.1.1 机械法

包括低渗裂解、超声裂解、微波裂解、冻融裂解、液氮研磨和颗粒破碎等物理裂解方法。这些方法用机械力使细胞破碎。

#### 4.3.1.2 化学法

在一定的 pH 环境下,加入表面活性剂或强离子剂(CTAB、SDS 等)使细胞裂解,蛋白质和多糖沉淀,核酸从细胞内释放出来。向缓冲液中加入一些金属离子螯合剂抑制核酸酶的活性,保护核酸不降解。

#### 4.3.1.3 酶法

通过加入溶菌酶或蛋白酶(如蛋白酶 K)使细胞破裂,核酸释放。蛋白酶还能降解与核酸结合的蛋白质,促进核酸的分离。

### 4.3.2 核酸的分离纯化

#### 4.3.2.1 酚/氯仿抽提法

细胞裂解后离心分离含核酸的水相,加入等体积的酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)混合液,混匀后离心分离。疏水性的蛋白质被分配至有机相,核酸则被留于上层水相。在含核酸的水相中加入醋酸钾或醋酸钠,形成核酸盐,核酸盐可被一些有机溶剂沉淀,离心得到的核酸可以用 70%乙醇洗涤以除去多余的盐分,即可获得一定纯度的核酸。

#### 4.3.2.2 固相抽提法

因分离和纯化同步进行,并且有商品试剂盒供应而被广泛应用于核酸的纯化。固相抽提方法的固相支持物有硅胶、玻璃颗粒、硅藻土、磁性颗粒、阴离子交换载体等,在一定的离子环境下,核酸可被选择性地吸附到固相支持物而与其他生物分子分离。

### 4.4 核酸的质量检测

完整性检测:通过凝胶电泳检测 DNA 为明亮单一的条带;RNA 为 28 s(23 s)、18 s(16 s)、5.8 s (5 s)三条清晰的 rRNA 条带,且 28 s 与 18 s 条带亮度比值约 2:1。

纯度检测:DNA:OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.7~1.9 之间;RNA:OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 在 1.9~2.1 之间。

浓度检测:核酸浓度不少于 100 ng/μL,体积不少于 100 μL。

符合上述要求的核酸可用于进一步保存,否则需重新提取。

核酸提取过程中采取防止交叉污染措施,并符合 SN/T 1193 的要求。

### 4.5 保存

#### 4.5.1 保存管

使用在-80℃条件下专用的冻存管保存。RNA 要求离心管 DEPC 处理过。

#### 4.5.2 标签

利用透明的可在-80℃不脱落的标签,标签内容:样品编号(Sample ID),采集编号(Collection Number),科中文名(Chinese Name of family),科拉丁名(Latin Name of Family),属中文名(Chinese Name of Genus),种中文名(Chinese Name of Species),保存时间,含量,鉴定人,单位,联系方式。

#### 4.5.3 保存盒

统一使用 100 管/盒的纸盒保存,保存盒分为昆虫、真菌、细菌、病毒、线虫及杂草几类,在盒子侧面贴标签,标签包含种类名称。



#### 4.5.4 保存条件

每个样品4种保存方式:—20℃保存;—80℃保存;液氮保存;冻干粉状态保存;每种保存方式的样品不少于10管。冰箱带锁并具有断电或温度异常报警功能。

### 5 核酸的管理

#### 5.1 设备管理

冰箱应有专人管理,建立使用台账,使用记录。用于保存核酸样品的冰箱等设备需要定期进行计量校验;每天检查冰箱温度并做登记记录。

#### 5.2 核酸质量核查

标本核酸需要定期检测与更新,每隔一年一次,随机抽取检测保存的各类有害生物的核酸样品,按1%比例抽取,按照不同类型有害生物的标准流程监控,电泳检测,检测结果符合上述保存要求,放回原处,并记录;检测结果不符合要求的,按以上的规范,重新提取、测定与保存样品。

#### 5.3 结果记录与资料保存

完整的实验记录包括:样品的名称与编号、来源、种类、时间,实验的时间、地点、方法和结果等,并要有经手人和实验人员的签字。检测需有最终的实验数据、电泳结果照片等。原始数据应归档,妥善保管,以备复验、谈判和仲裁。

### 6 复核

由国家质量监督检验检疫总局指定的单位或人员负责。主要检查实验记录、照片等资料的完整性和真实性,必要时进行复核实验。

SN/T 4629—2016

## 附 录 A

(资料性附录)

### 核酸保存常用仪器设备

研钵、超声破碎仪、匀浆机、离心管、指型管、水浴锅、可调移液器、可调移液器头、涡旋振荡器、超净工作台、电子天平、分光光度计、PCR 仪、电泳仪、电泳槽、紫外透射仪、凝胶成像系统、灭菌锅、核酸蛋白分析仪、高速冷冻离心机、台式小型离心机、低温冰箱、纯水机等。

参 考 文 献

[1] KIEFER E, HELLER W, ERNSTD. A simple and efficient protocol for isolation of functional RNA from plant tissues rich in secondary metabolites [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2000, 18: 33-39.

[2] SALZMAN R A, FUJITA T, ZHU—SALZMANK. An improved RNA isolation method for plant tissues containing high levels of phenolic compounds or carbohydrates [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1999, 17: 11-17.

---

中华人民共和国出入境检验检疫  
行 业 标 准  
检疫性有害生物凭证标本核酸制备、  
保存与管理规范  
SN/T 4629—2016

\*

中国标准出版社出版  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)  
总编室:(010)68533533  
网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字  
2018年1月第一版 2018年1月第一次印刷  
印数 1—500

\*

书号: 155066 · 2-32341 定价 16.00 元



SN/T 4629-2016