



中华人民共和国国家标准

GB/T 34265—2017

Sanger 法测序技术指南

Guide for the method of Sanger sequencing

2017-09-07 发布

2018-04-01 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	I
引言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	2
5 原理	2
6 主要仪器、设备	2
7 Sanger 法基因测序指标	3
8 Sanger 法基因测序方法	4
9 Sanger 法基因测序的应用	5
附录 A (资料性附录) Sanger 法测序原理示意图	6
附录 B (资料性附录) 试剂及溶液配制	7
附录 C (资料性附录) 测序反应体系的配制	8
附录 D (资料性附录) 扩增程序	9
附录 E (资料性附录) 待测序产物纯化	10
参考文献	11

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本标准起草单位:深圳华因康基因科技有限公司、深圳市华因康高通量生物技术研究院、广州康昕瑞基因健康科技有限公司、武汉康昕瑞基因健康科技有限公司、中国测试技术研究院、上海交通大学医学院附属瑞金医院、国家人类基因组南方研究中心、中国计量科学研究院、中山大学肿瘤防治中心。

本标准主要起草人:盛司潼、谭辉彪、李花、曾涛、杨杰斌、周李华、张俊、王升跃、全灿、陈功。

引 言

基因测序方法是基因科技产业链的核心技术,其发展状况直接关系到生物产业的发展状况,对生物学、癌症攻克、遗传学、医药研制、药效分析、农业、新能源、国家民族战略安全和人类生命健康安全具有至关重要的支撑作用。

基因测序技术在全球的发展非常迅速,目前实际应用最广泛的是 Sanger 测序方法,它是超高精度测序的黄金标准,是迄今为止唯一既能用于人类基因组提供从头测序,又能用于从头组装的技术。将 Sanger 测序方法标准化并加以推广应用,生物企业乃至整个国内行业就会获得一个绝好的技术规范和保护自我发展的壁垒,推动整个行业产业链的发展,提升整个行业的技术实力。早日实现 Sanger 测序方法的标准化,将对我国基因生物检测产业这一战略性新兴产业的发展起到至关重要的促进作用。为了使 Sanger 测序方法更加规范,有效发挥其重要的科技支撑作用,有必要对其制定标准。

由于 Sanger 测序方法并非单一技术,涉及到不同技术领域的结合,包括生物、化学、机械、数据处理等,因此本标准仅对 Sanger 法基因测序的术语、技术指标,以及所涉及的仪器设备、试剂、方法进行说明和规定。

Sanger 法测序技术指南

1 范围

本标准规定了 Sanger 测序方法的术语和定义、缩略语、原理、主要仪器、设备、Sanger 法基因测序指标、Sanger 法基因测序方法、Sanger 法基因测序的应用。

本标准适用于对动物组织、植物组织、血液、口腔黏膜、毛发、粪便、土壤、微生物等生物样品中的 DNA 通过 Sanger 测序方法进行测序。

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 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

基因测序 gene sequencing

对核酸分子的核苷酸排列顺序的测定,即测定组成核酸分子的腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)或者是尿嘧啶(U)的排列顺序。

[GB/T 30989—2014,定义 3.18]

3.2

Sanger 测序方法 method of Sanger sequencing

用于基因测序的双脱氧链末端终止法,在链延伸过程中利用荧光标记双脱氧碱基随机阻断,产生以 A、T、C、G 结束的四组不同长度的核苷酸链,通过读取荧光信号实现对核酸碱基序列信息的读取。

3.3

变性 denaturation

蛋白质或核酸的二级或三级结构在物理或化学因素作用下被改变而导致其理化性质改变和生物活性丧失的现象。

3.4

引物 primer

在 DNA 复制过程中,结合于模板链上并作为复制延伸的起始位点和/或终止位点的,具有一定长度和顺序的寡核苷酸链。

[GB/T 30989—2014,定义 3.11]

3.5

测序读长 read length of gene sequencing

测序能测得的最长基因片段的长度。

注:通常以碱基数表示。