

中华人民共和国国家标准

农业部 2031 号公告—8—2013

转基因植物及其产品成分检测 大豆内标准基因定性 PCR 方法

Detection of genetically modified plants and derived products—
Target–taxon–specific qualitative PCR method for soybean

2013-12-04 发布

2013-12-04 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会(SAC/TC 276)归口。

本标准起草单位:农业部科技发展中心、吉林省农业科学院。

本标准主要起草人:张明、宋贵文、李飞武、李葱葱、赵欣、董立明、闫伟、邢珍娟、宋新元、刘娜。

转基因植物及其产品成分检测 大豆内标准基因定性 PCR 方法

1 范围

本标准规定了大豆内标准基因 *Lectin* 的定性 PCR 检测方法。
本标准适用于转基因植物及其制品中大豆成分的定性 PCR 检测。

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

NY/T 672 转基因植物及其产品检测 通用要求

农业部 2031 号公告—19—2013 转基因植物及其产品检测 抽样

农业部 1485 号公告—4—2010 转基因植物及其产品成分检测 DNA 提取和纯化

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

Lectin 基因 *Lectin gene*

编码大豆凝集素的基因。

4 原理

根据 *Lectin* 基因序列设计特异性引物及探针,对试样进行 PCR 扩增。依据是否扩增获得预期的 DNA 片段或典型的荧光扩增曲线,判断样品中是否含有大豆成分。

5 试剂和材料

除非另有说明,仅使用分析纯试剂和重蒸馏水或符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 琼脂糖。

5.2 10 g/L 溴化乙锭溶液:称取 1.0 g 溴化乙锭(EB),溶解于 100 mL 水中,避光保存。

警告——溴化乙锭有致癌作用,配制和使用时应戴一次性手套操作并妥善处理废液。

5.3 10 mol/L 氢氧化钠溶液:在 160 mL 水中加入 80.0 g 氢氧化钠(NaOH),溶解后,冷却至室温,再加水定容到 200 mL。

5.4 500 mmol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(pH 8.0):称取 18.6 g 乙二铵四乙酸二钠(EDTA- Na_2),加入 70 mL 水中,再加入适量氢氧化钠溶液(5.3),加热至完全溶解后,冷却至室温,用氢氧化钠溶液(5.3)调 pH 至 8.0,加水定容至 100 mL。在 103.4 kPa(121°C)条件下灭菌 20 min。

5.5 1 mol/L 三羟甲基氨基甲烷—盐酸溶液(pH 8.0):称取 121.1 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris)溶解于 800 mL 水中,用盐酸(HCl)调 pH 至 8.0,加水定容至 1 000 mL。在 103.4 kPa(121°C)条件下灭菌 20 min。

5.6 TE 缓冲液(pH 8.0):分别量取 10 mL 三羟甲基氨基甲烷—盐酸溶液(5.5)和 2 mL 乙二铵四乙酸