

# 中华人民共和国国家标准

农业部 2031 号公告—17—2013

---

## 转基因生物及其产品食用安全检测 蛋白质热稳定性试验

Food safety detection of genetically modified organisms and derived  
products—Protein heat stability test

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、中国农业大学、中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准主要起草人:黄昆仑、沈平、杨晓光、贺晓云、赵欣、许文涛、车会莲、罗云波。

## 转基因生物及其产品食用安全检测 蛋白质热稳定性试验

### 1 范围

本标准规定了转基因生物外源基因表达的蛋白质热稳定性试验的设计原则、测定指标和结果判定。本标准适用于转基因生物外源基因表达的蛋白质的热稳定性试验。

### 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

**热稳定性 heat stability**

蛋白质在特定加热条件下,加热期间内一定时间间隔下的降解性能。

### 4 原理

通过对蛋白质溶液在热加工条件下加热一定时间间隔,采用蛋白质电泳或生物活性方法检测蛋白质的降解情况,从而判断转基因生物表达的外源蛋白质是否具有热稳定性。

### 5 试剂和材料

除非另有说明,仅使用分析纯试剂和符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 蛋白质分子量标准:根据待测样品分子量大小选择合适范围的已知相对分子质量的蛋白标准。

5.2 300 g/L 丙烯酰胺单体储液(Acr/Bis):称取 29.1 g 丙烯酰胺(Acr),0.9 g N,N'-甲叉双丙烯酰胺(Bis),溶于 80 mL 水中,搅拌至完全溶解,加水定容至 100 mL,滤纸过滤,4℃下避光保存,30 d 内使用。

5.3 3 mol/L 盐酸溶液:量取 26 mL 市售盐酸(质量分数为 36%),加水定容至 100 mL。

5.4 浓缩胶缓冲液(1 mol/L Tris, pH 6.8):称取 6.06 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris)加入 40 mL 水中,搅拌至完全溶解,用 3 mol/L 盐酸溶液(5.3)调 pH 至 6.8,再加水定容至 50 mL,4℃下贮存备用。

5.5 分离胶缓冲液(1.5 mol/L Tris, pH 8.8):称取 9.08 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris),加入 40 mL 水中,搅拌至完全溶解,用 3 mol/L 盐酸溶液(5.3)调 pH 至 8.8,再加水定容至 50 mL,4℃下贮存备用。

5.6 100 g/L 十二烷基硫酸钠:称取 5 g 十二烷基硫酸钠(SDS)溶于 40 mL 水中,加热搅拌至完全溶解,加水定容至 50 mL。

5.7 100 g/L 过硫酸铵:称取 0.1 g 过硫酸铵(AP),溶于 1 mL 水中。4℃中保存,在 7 d 内使用。

5.8 N,N,N',N'-四甲基二乙胺(TEMED):量取 1 mL 的 N,N,N',N'-四甲基二乙胺(TEMED)于 1.5 mL 离心管中,4℃避光贮存备用。

5.9 2×样品缓冲液(pH 6.8):量取 1.6 mL 浓缩胶缓冲液(pH 6.8),加入 4 mL 100 g/L 十二烷基硫