



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1199—2010
代替 SN/T 1199--2003

棉花中转基因成分定性 PCR 检验方法

Protocol of the polymerase chain reaction for detecting genetically
modified components in cotton

2010-05-27 发布

2010-12-01 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。

本标准代替 SN/T 1199--2003《棉花中转基因成分定性 PCR 检测方法》。

本标准与 SN/T 1199—2003 相比,主要技术变化如下:

- 规范了专业用语和表述方式;
- 范围中增加“转基因棉花品系 MON531, MON1445 和 MON15985 实时荧光 PCR 的品系鉴定”;
- 术语和缩略语参照 GB/T 19495.1《转基因产品检测 实验室技术要求》中的规定;
- 对棉花中 DNA 的提取,采用 CTAB 法的部分(2003 年版的 6.4.1 和 6.4.2;本版的 9.1.1)采用 GB/T 19495.3 中规定的方法;增加了 9.1.2 凡不适用于 9.2.1 方法的样品可按照 GB/T 19495.3 中规定相应的方法执行;
- 对食品中核酸的定量(2003 年版的 6.5;本版的 9.2)采用 GB/T 19495.3 中规定的方法;
- 增加了实时荧光 PCR 方法,并在结果判断步骤中(2003 年版的第 7 章;本版的 9.5.2)相应增加了实时荧光 PCR 检测结果判断方法;
- 对常规 PCR 扩增反应体系,反应循环数及其结果判断(2003 年版的 6.6.1、6.6.2、6.6.3、表 2 和表 3;本版的 8.5.1、表 A.1、表 A.3 和表 A.4)的表述方式重新编排,并修改了确证实验方法。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:刘烜、刘伟、贺艳、潘良文、赵卫东、郑文杰、刘跃庭。

本标准于 2003 年首次发布,2010 年第一次修订。

棉花中转基因成分定性 PCR 检验方法

1 范围

本标准规定了棉籽中转基因成分的定性 PCR 检测方法。

本标准适用于棉籽及粗加工产品中抗鳞翅目昆虫棉花 SGK321、SGK9708、GK1、GK2、GK3、GK5、GK12、GK19、GK22、GK95-1 转基因成分普通 PCR 筛选检测和转基因棉花品系 MON531、MON1445 和 MON15985 实时荧光 PCR 的品系鉴定。

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 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法

GB/T 10360 油料饼粕 扦样

GB/T 19495.1 转基因产品检测 通用要求和定义

GB/T 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求

GB/T 19495.3—2004 转基因产品检测 核酸提取纯化方法

3 术语和缩略语

GB/T 19495.1 界定的术语和缩略语适用于本文件。

4 原理

样品经过提取 DNA 后，针对转基因棉籽内外源基因所设计的引物和探针序列，通过普通 PCR，特异性扩增内外源基因的 DNA 片段，并根据 PCR 判断该样品中是否含有转基因成分。如需进行品系鉴定，则经过实时荧光 PCR 技术，判断样品中是否含有某品系。

5 仪器用具

5.1 基因扩增仪、电泳仪、电泳槽、凝胶分析成像系统、紫外可见分光光度计、天平(感量 1 mg 和 0.1 mg)、高压灭菌锅、超低温冰箱、冷冻离心机、水浴锅、微波炉、实时荧光定量 PCR 仪、超净工作台、超纯水器、旋涡振荡器。

5.2 微量加样器(2.5 μL 、10 μL 、20 μL 、100 μL 、200 μL 、1 000 μL)、PCR 反应管(200 μL 、500 μL)、Eppendorf 离心管(1.5 mL 和 2.0 mL)。

6 试剂

除另有规定外，其他试剂为分析纯或生化试剂，水为按照 GB/T 6682 规定的一级水。