

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3875—2021

驴骡马源性成分鉴定 实时荧光定性PCR法

Identification of donkey, mule/hinny and horse derived materials—
Real-time qualitative PCR method

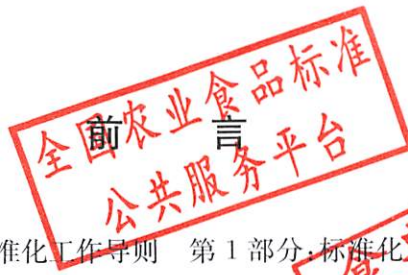
行业标准信息服务平台

2021-05-07 发布

2021-11-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布



本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本文件起草单位：山东省农业科学院生物技术研究中心。

本文件主要起草人：张全芳、胡悦、范阳阳、刘艳艳、谭晴晴、杨雪、陈雪燕、刘国霞、陈淑娟、谷玉霞、杨连群、王俊燕、步迅。

行业标准信息服务平台

驴骡马源性成分鉴定 实时荧光定性 PCR 法

1 范围

本文件规定了驴、骡和马 3 种动物源性成分的实时荧光定性 PCR 检测方法。

本文件适用于动物肉、皮、毛中驴、骡和马 3 种动物源性成分的定性检测。

本方法定性检出限为 1%。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实时荧光 PCR *real-time PCR*

在聚合酶链式反应(PCR)的体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时检测整个 PCR 进程，对未知模板进行定性或定量分析。

3.2

循环数阈值 *cycle threshold, Ct*

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

3.3

肌肉肌酸激酶基因 *creatine kinase of muscle gene, ckm*

编码肌肉肌酸激酶的一个核基因。

4 原理

根据驴和马的核基因 *ckm* 设计马属通用引物，在差异位点处分别设计驴和马的特异性 TaqMan 探针，采用实时荧光 PCR 技术进行扩增，根据 PCR 扩增反应的荧光信号及循环阈值，判定试样中含有驴、骡和马 3 种动物源性成分的情况。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级水。

5.2 Tris-HCl 缓冲液(1 mol/L, pH 6.4)：称取 12.10 g Tris 置于 100 mL 烧杯中，加入 80 mL 水，用盐酸调节 pH 至 6.4，加水定容至 100 mL，103.4 kPa 蒸汽压(121 °C)灭菌 20 min，室温保存待用。

5.3 Tris-HCl 缓冲液(0.5 mol/L, pH 8.0)：称取 6.05 g Tris 置于 100 mL 烧杯中，加入 80 mL 水，用盐酸调节 pH 至 8.0，加水定容至 100 mL，103.4 kPa 蒸汽压(121 °C)灭菌 20 min，室温保存待用。

5.4 EDTA 缓冲液(0.5 mol/L, pH 8.0)：称取 18.61 g Na₂EDTA · 2H₂O 置于 100 mL 烧杯中，加入 80 mL 水，用 10% 的 NaOH 溶液，调节 pH 至 8.0，加水定容至 100 mL，103.4 kPa 蒸汽压(121 °C)灭菌