



中华人民共和国国家标准

GB/T 38485—2021

微生物痕量基因残留测定 微滴数字 PCR 法

Determination for trace gene residues of microorganisms—
Microdroplet digital PCR

2021-12-31 发布

2022-07-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

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。

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专利的责任。

本文件由中国标准化研究院提出并归口。

本文件起草单位：清华大学、中国科学院微生物研究所、河北省食品检验研究院、中国标准化研究院。

本文件主要起草人：张翀、邢新会、杜文斌、周巍、郭永、剪兴金、汪海燕、郑蒙、蔡东洋、马爱进。

微生物痕量基因残留测定

微滴数字 PCR 法

1 范围

本文件规定了用微滴数字 PCR 法测定微生物痕量基因残留(100 pg/mL 以下)的方法。
本文件适用于加工产品中酿酒酵母和植物乳杆菌痕量特征基因残留(100 pg/mL 以下)的测定。

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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

痕量基因残留 trace gene residue

微生物加工产品在后续分离纯化中很难去除的痕量(含量在 100 pg/mL 以下)核酸。

4 原理

利用液滴微流控技术,将待测生物样品所残留的目标核酸 PCR 扩增体系分割成几十份到几万份包含一个拷贝的核酸分子微升级油包水微滴。按照常规 PCR 体系对其进行扩增,通过荧光探针实现信号读出。所产生微滴阳性信号的数目即代表了原始样本中目标核酸分子的拷贝数,从而直接数出目标核酸分子的个数,对起始样品的痕量基因残留进行定量。

5 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

5.1 水为 GB/T 6682 规定的一级水。将一级水在 121 °C 下高压加热灭菌 15 min 制备得到无菌水。

5.2 DNA 提取试剂盒。

5.3 微滴数字 PCR 反应试剂盒。

5.4 引物和探针

5.4.1 酿酒酵母引物和探针:

SC-F:5'-GGACTCTGGACATGCAAGAT-3';

SC-R:5'-ATACCCTTCTTAACACCTGG-3';

SC-P:5'-FAM-CCCTTCAGAGCGTTTTCTCTAAATTGATAC-BHQ1-3'。