



中华人民共和国国家标准

GB/T 19495.4—2004

转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法

Detection of genetically modified organisms and derived products—
Qualitative PCR methods based on nucleic acid

2004-04-13 发布

2004-04-13 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 防污染措施	1
5 抽样和制样	1
6 原理	1
7 试剂	2
8 仪器设备	2
9 检测步骤	2
10 结果判定	4
11 结果表述	4
12 测试报告	4
附录 A (规范性附录) 物种特异性检测方法	5
附录 B (规范性附录) 筛选检测方法	22
附录 C (规范性附录) 结构基因特异性检测方法	32
附录 D (规范性附录) 品系特异性检测方法	45
参考文献	52

前 言

GB/T 19495《转基因产品检测》为系列标准：

- GB/T 19495.1—2004 转基因产品检测 通用要求和定义；
- GB/T 19495.2—2004 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；
- GB/T 19495.4—2004 转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法；
- GB/T 19495.5—2004 转基因产品检测 核酸定量 PCR 检测方法；
- GB/T 19495.6—2004 转基因产品检测 基因芯片检测方法；
- GB/T 19495.7—2004 转基因产品检测 抽样和制样方法；
- GB/T 19495.8—2004 转基因产品检测 蛋白质检测方法。

本部分附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 为规范性附录。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

中华人民共和国上海出入境检验检疫局和中华人民共和国天津出入境检验检疫局负责起草，国家质量监督检验检疫总局动植物检疫实验所、中华人民共和国广州出入境检验检疫局、中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、上海市农业科学院、吉林省农业科学院参加起草。

本部分起草人：潘良文、郑文杰、沈禹飞、刘炬、张舒亚、朱水芳、覃文、曹际娟、张大兵、祝长青、蒋原、潘爱虎、张明。

本部分系首次发布的国家标准。

转基因产品检测

核酸定性 PCR 检测方法

1 范围

GB/T 19495 的本部分规定了转基因产品检测的核酸定性 PCR 方法。

本部分适用于种子、饲料、食品和环境样品中转基因成分的定性 PCR 检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 19495 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 19495.1—2004	转基因产品检测	通用要求和定义
GB/T 19495.2—2004	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
GB/T 19495.5—2004	转基因产品检测	核酸定量 PCR 检测方法
GB/T 19495.7—2004	转基因产品检测	抽样和制样方法

3 术语和定义

见 GB/T 19495.1 确立的术语和定义适用于本部分。

4 防污染措施

按照 GB/T 19495.2—2004 的规定执行。

5 抽样和制样

按照 GB/T 19495.7—2004 规定的方法执行。

6 原理

6.1 一般原理

定性分析包括对测试样品目标核酸序列的筛选检测和(或)特异性检测。

在设置合适的对照和在检测下限的情况下,定性检测结果要清楚判断样品是否为转基因产品。

本检测方法包括:目标序列的扩增和检测;扩增片段特异性的确证。

6.2 PCR 扩增

目标序列的扩增是在反应缓冲液中,脱氧核糖核酸三磷酸、寡核苷酸引物在 DNA 聚合酶的作用下进行的催化反应。在反应混合体系中不应存在 DNA 聚合酶的抑制剂。DNA 扩增是一个循环的过程:

——通过加热使双螺旋 DNA 变性成为单链核酸;

——在合适的温度下引物和目标序列发生退火反应;

——在合适的温度下,结合在两条单链上的引物通过 DNA 聚合酶作用进行 PCR 延伸反应。

6.3 PCR 产物检测和确证

可以通过凝胶电泳或其他方法检测 PCR 产物,必要时可以将 PCR 产物从凝胶中分离出来进行