

应用微芯片电泳仪 MultiNA 定性检测转基因大豆 356043

MultiNA-009

摘要：利用植物基因组提取试剂盒提取转基因大豆标准品的基因组，以大豆内源 Lectin 基因作为内参，针对 356043 转基因序列设计特异性引物进行 PCR 扩增，MultiNA 检测扩增产物大小，结果显示 PCR 扩增产物片段长度与理论长度基本一致，表明检测出转基因 356043 成分。本实验表明应用 MultiNA 可以实现对转基因大豆 356043 品系的鉴定。

关键词：MultiNA PCR 转基因检测大豆 356043 转基因定性检测

在过去的 10 年中，越来越多的转基因作物已经批准用于全球性栽培和商业化。大豆是一种非常重要的转基因作物。2007 年，转基因大豆的种植面积已达到总大豆种植面积的一半以上。目前，我国批准了 8 种转基因大豆品种进口用作加工原料，它们是抗农达大豆 GTS40-3-2，抗除草剂大豆 A2704-12，抗除草剂大豆 MON89788，抗除草剂大豆 356043，品质改良大豆 305423，抗除草剂大豆 CV127，抗虫大豆 MON87701 及抗虫耐除草剂大豆 MON87701×MON89788。

356043 转基因大豆含有一段孤立的、包含一个改进功能的草甘膦基因片段，使大豆具有耐除草剂的作用。

这个片段最初来自地衣芽胞杆菌和大豆的改良原生合成酶基因。

本文根据转基因大豆 356043 特异性序列设计特异性引物，对样品进行 PCR 扩增，MultiNA 检测扩增产物。依据是否扩增获得预期 145 bp 的特异性 DNA 片段，判断是否含有 356043 转基因成分。实验中以转基因大豆 356043 标准品为检测对象，MultiNA 检测出样品中 153 bp 的特异性片段，与预期片段长度基本符合，表明本实验方法可以实现定性检测大豆中的 356043 转基因成分。

■ 实验部分

1.1 仪器

MCE-202 MultiNA

1.2 试剂

植物基因提取试剂盒 (北京勤邦生物技术有限公司, FZ-002)

SYBR[®] Gold Nucleic Acid Gel Stain (Invitrogen, S-11494)

1×TE Buffer

25 bp DNA Ladder (Invitrogen, 10597-011)

DNA-500 Reagent Kit for MultiNA (岛津公司, P/N 292-27910-91)

样品：欧洲标准物质大豆种子粉末，转基因大豆 356043 含量 10% (ERM-BF425d)

引物：根据文献和 NCBI 序列，大豆内源 Lectin，转基因 356043 的引物设计如表 1 所示。

表3 PCR反应参数

作用	时间/s	温度/℃
活化DNA活性酶和预变性	30	95
PCR (45个循环)		
变性	30	95
退火	30	55
延伸	60	72
循环后保持	180	72

1.6 MultiNA 检测

PCR 扩增产物进入 MultiNA 进行测定。根据理论产物片段大小，实验中选用 500 bp 的试剂盒进行测定。为了验证测量的准确性，本文同时进行了阴性对照实验，阴性对照的反应体系中不加入 DNA 模板。

结果讨论

图 1 与图 2 分别是 MultiNA 测量转基因大豆 356043 的凝胶图和电泳图。实验结果显示玉米内源 Lectin 基因片段长度为 166 bp，与理论片段长度 162 bp 基本一致，表明大豆基因组被成功的提取出来且 PCR 过程被顺利执行。对于转基因 356043，结果显示检测出 153 bp 的基因片段，与理论片段长度 145 bp 基本符合，表明 356043 转基因被成功检测出。阴性对照实验中没有检测到相关片段，表明无假阳性检出。

结论

本文基于分子生物学手段，采用岛津公司 MCE-202 MultiNA 建立了定性检测转基因大豆 356043 的方法。此方法对于检测 356043 品系转基因大豆灵敏度强，操作简便，结果准确。

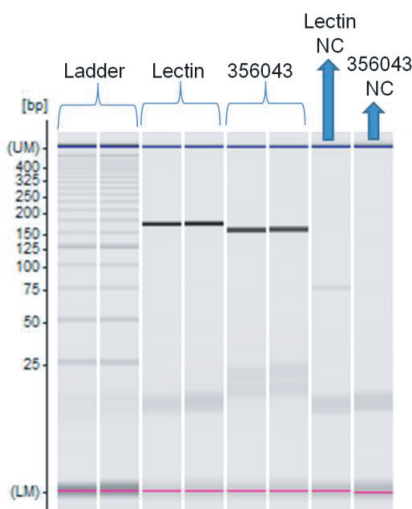


图1 MultiNA检测转基因大豆356043凝胶图 (NC: 阴性对照)

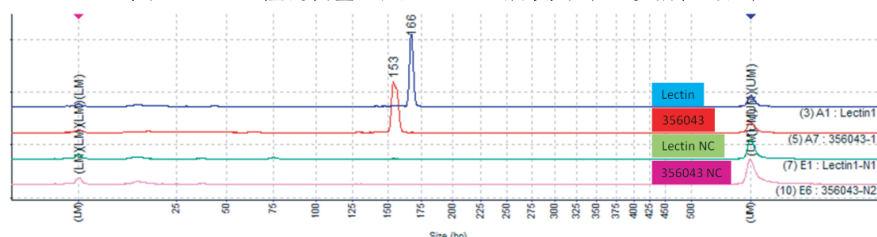


图2 MultiNA检测转基因大豆356043电泳图 (NC: 阴性对照)