

# 基于微芯片电泳仪 MultiNA 对大豆、玉米中转基因成分的定性检测

## MultiNA-005

**摘要：**利用植物基因组提取试剂盒提取大豆、玉米各三组样品的基因组，分别以大豆内源 Lectin 和玉米内源 Zein 基因作为内参，针对转基因作物中常用的外源启动子 CaMV35S 和外源终止子 NOS 基因设计特异性引物进行 PCR 扩增，MultiNA 检测扩增后产物判断是否存在转基因成分。结果显示三组大豆样品未检出转基因成分，而两组玉米样品检测出 NOS 外源基因。本实验表明应用 MultiNA 可以实现转基因作物的筛选定性检测。

**关键词：**MultiNA PCR 转基因检测 大豆 玉米 定性检测

随着分子生物学技术的不断发展，转基因作物的研究和种植都在不断扩展，2013 年中国的基因作物种植面积为 420 万公顷，位于全球第六名。另外，由于近年来国内市场的一些农作物，如玉米价格比较高昂，我国大量地从美国和阿根廷进口玉米，而这两个国家种植的玉米 80 % 都是转基因产品。为了保护消费者的正当利益和健康，使消费者具有知情权和选择权，我国对部分的转基因产品实施的是零阈值管理标识制度，只要在规定的标识产品范围内，只要可能含有转基因成分，就必须进行标识管理。因此，在转基因产品对人类身体健康和

环境是否绝对安全的定论得出之前，建立可靠灵敏便捷的转基因检测手段是非常必要的。

本文应用 MultiNA 基于分子生物学手段对市场上的大豆、玉米进行了转基因成分定性检测。分别以大豆内源 Lectin 和玉米内源 Zein 基因为内参，针对转基因作物中常用的启动子 CaMV35S 和终止子 NOS 外源基因设计特异性引物进行 PCR 扩增，MultiNA 检测扩增后产物。本应用实验表明基于 MultiNA 可以实现转基因成分的定性筛查。

### 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<sup>®</sup> Gold Nucleic Acid Gel Stain ( Invitrogen, S-11494 )

1×TE Buffer

25 bp DNA Ladder ( Invitrogen, 10597-011 )

样品：大豆、玉米样品各三组。

引物：根据文献和 NCBI 序列，扩增大豆内源 Lectin，玉米内源 Zein，外源启动子 CaMV35S 和外源终止子 NOS 基因的引物设计如表 1 所示。



## 1.5 PCR 反应体系

### PCR 反应试剂

	使用量	终浓度
SYBR <sup>®</sup> Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 2(×)	10.0 μl	1×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.8 μl	0.4 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.8 μl	0.4 μM
DNA 模板	2.0 μl	30 ng/μL
dH <sub>2</sub> O (灭菌蒸馏水)	6.4 μl	
总体积	20.0 μl	

### PCR 反应参数

作用	时间/s	温度/°C
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 扩增后产物经 BioSpec-Nano 检测浓度后，稀释成 MultiNA 检测所需浓度范围 (0.5 ng/μL ~50 ng/μL)，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 是 MultiNA 测量三组大豆内源 Lectin 基因的电泳图，结果表明片段被明显扩增并且检测到，其片段大小与预期基本相符合，显示大豆基因组被成功的提取出来。用 CaMV35S 和 NOS 特异性引物扩增三组大豆的基因组，结果如图 2 和图 3 所示。结果显示未检测出预期的 CaMV35S 的 195 bp 与 NOS 的 180 bp 的条带，表明所有的大豆样品都不含有转基因 CaMV35S 和 NOS 成分。

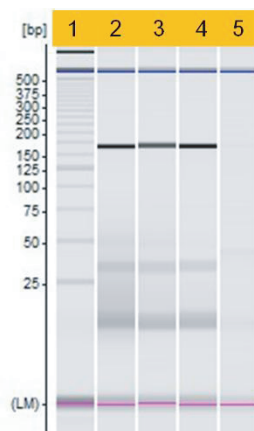


图1 大豆内源Lectin检测凝胶结果

(1: Ladder, 2: 1号大豆样品, 3: 2号大豆样品, 4: 3号大豆样品, 5: 阴性对照)

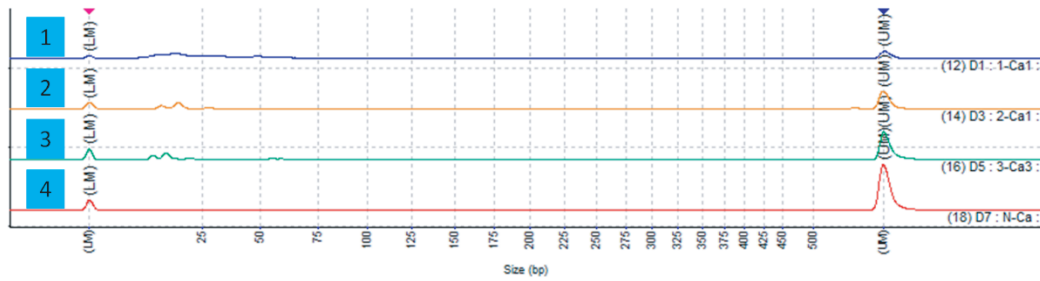


图2 大豆外源启动子CaMV35S检测电泳结果

(1: 1号大豆样品, 2: 2号大豆样品, 3: 3号大豆样品, 4: 阴性对照)

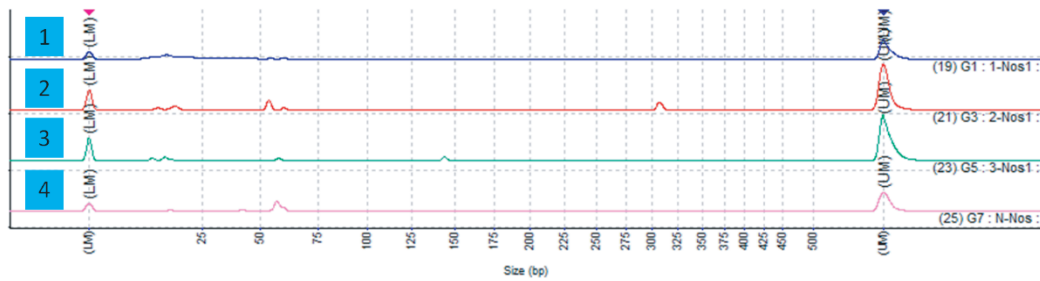


图3 大豆外源终止子NOS检测电泳结果

(1: 1号大豆样品, 2: 2号大豆样品, 3: 3号大豆样品, 4: 阴性对照)

图4是 MultiNA 检测三组玉米样品内源 Zein 基因的电泳图, 与大豆样品相似, 内源基因清晰地被检测出来, 说明玉米基因组提取成功。图5和图6分别是以 CaMV35S 和 NOS 为靶基因设计引物, PCR 扩增后, MultiNA 检测扩增产物的电泳图。图5显示三组玉米样品均未扩增出预期长度为 195 bp 的 CaMV35S 条带。图6显示1号和2号玉米样品中扩增出 173 bp, 174 bp 条带, 与理论 NOS 条带 180 bp 接近, 表明这两组玉米样品可能含有转基因成分, 是转基因玉米。而在这两组玉米样品中未检测出启动子 CaMV35S 成分, 原因可能是此转基因玉米不包含 CaMV35S 启动子或样品的基因组受到不同程度的破坏。

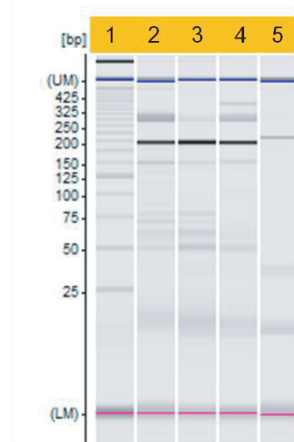


图4 玉米内源Zein检测凝胶结果

(1: Ladder, 2: 1号玉米样品, 3: 2号玉米样品, 4: 3号玉米样品, 5: 阴性对照)

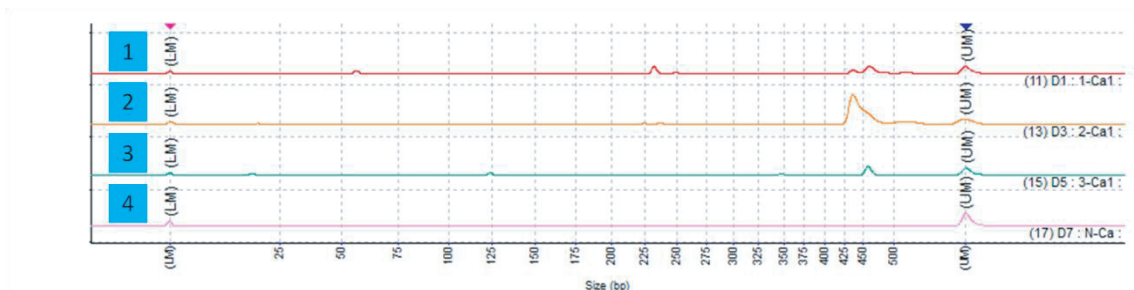


图5 玉米外源启动子CaMV35S检测电泳结果

(1: 1号玉米样品, 2: 2号玉米样品, 3: 3号玉米样品, 4: 阴性对照)

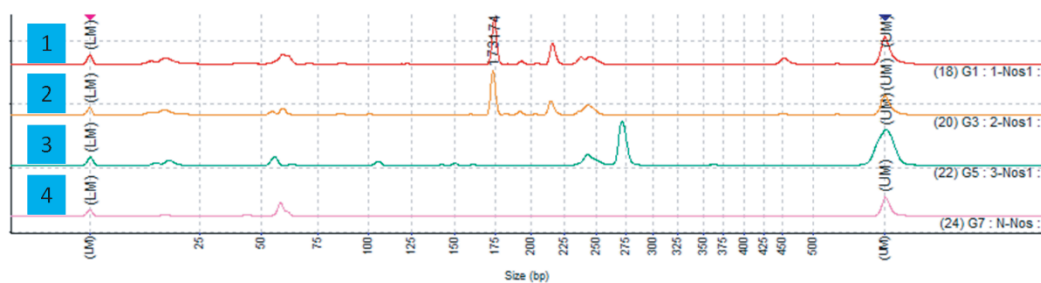


图3 玉米外源终止子NOS检测电泳结果

(1: 1号玉米样品, 2: 2号玉米样品, 3: 3号玉米样品, 4: 阴性对照)

## 结论

本文基于分子生物学技术, 采用岛津公司 MCE-202 MultiNA 建立了定性检测作物中转基因成分的方法。此方法对于转基因成分的检测特异性高, 覆盖面广, 可以实现快速的转基因筛选检测, 为后期的特定基因的鉴定打下良好基础。