

# 应用微芯片电泳仪 MultiNA 定性检测转基因玉米 Bt-176

## MultiNA-007

**摘要：**利用植物基因组提取试剂盒提取转基因玉米 Bt-176 标准品的基因组，以玉米内源 Zein 基因作为内参，针对 Bt-176 转基因序列设计特异性引物进行 PCR 扩增，MultiNA 微芯片电泳仪检测扩增产物，结果显示扩增产物片段长度与理论长度基本一致，表明含有转基因 Bt-176。本实验表明应用 MultiNA 可以实现对转基因玉米中 Bt-176 转基因成分的定性检测。

**关键词：**MultiNA PCR 转基因检测玉米 Bt-176 转基因定性检测

随着转基因产品的不断增加，在国际进出口贸易中，一些输入国不仅要知道进口的产品是否含有转基因成分，而且还要查明该转基因成分来自哪个作物品种，该品种是否获准进入本国。因此针对某个转基因作物品种的定性检测技术的建立非常重要。目前，我国已经批准用作加工用途的转基因玉米品种共计 15 个，包括抗农达玉米 NK603，抗虫耐除草剂玉米 MON88017，抗虫玉米 MON89034，抗虫玉米 MIR604，抗除草剂玉米 GA21，抗虫耐除草剂玉米 Bt11×GA21，抗除草剂玉米 T25，抗虫玉米 MON810，抗虫玉米 MON863，抗虫玉米 TC1507，抗虫玉米 59122，抗虫玉米 Bt11，抗虫玉米 Bt176，耐旱玉米 MON87460，品种改良玉米 3272。转基因玉米 Bt-176 是抗虫且耐草铵膦除草剂的转基因玉米品种，是利用基因工程技术分别将苏云金芽孢杆菌亚种 *kurstaki* 的 Cry1A(b) 基因、土壤细菌的 *bar* 基因等

外源基因导入玉米中而获得的抗玉米螟和耐草铵膦转基因品种。Cry1A(b) 基因表达产生特异性杀虫晶体蛋白 (Insecticidal crystal protein, ICP)，在特定 pH 条件下激活，通过与昆虫中肠上皮细胞受体特异结合，导致细胞膜穿孔。*bar* 基因主要作为选择性标记物，可产生 PAT 酶 (phosphinothricin acetyl transferase)，提高抗除草剂草铵膦的能力。

本文根据转基因玉米 Bt-176 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 210 bp 的特异性 DNA 片段，判断是否含有 Bt-176 转基因成分。本实验以转基因玉米 Bt-176 标准品为检测对象，MultiNA 检测出样品中 215 bp 的特异性片段，与预期片段长度基本一致，表明本实验方法可以实现定性检测玉米中的 Bt-176 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<sup>®</sup> 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：欧洲标准物质玉米粉末，转基因玉米 Bt-176 含量 5% (ERM-BF411f)

引物：根据文献和 NCBI 序列，玉米内源 Zein，转基因 Bt-176 的引物设计如表 1 所示。



表3 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 是 MultiNA 测量转基因玉米 Bt-176 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 195 bp，与理论片段长度 190 bp 基本一致，表明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 Bt-176，结果显示检测出 215 bp 的基因片段，与预期的 210 bp 基本一致，说明成功检测出 Bt-176 转基因成分。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技术，采用岛津公司 MCE-202 MultiNA 建立了定性检测转基因玉米 Bt-176 的方法。此方法对于检测 Bt-176 品系转基因玉米灵敏度强，操作简便，结果准确，可供检测机构作为参考。

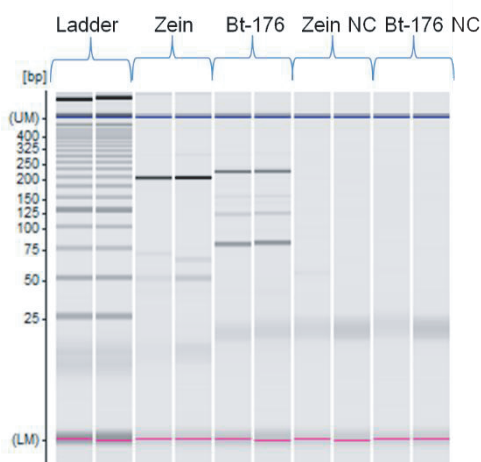


图1 MultiNA检测转基因玉米Bt-176凝胶图 (NC: 阴性对照)

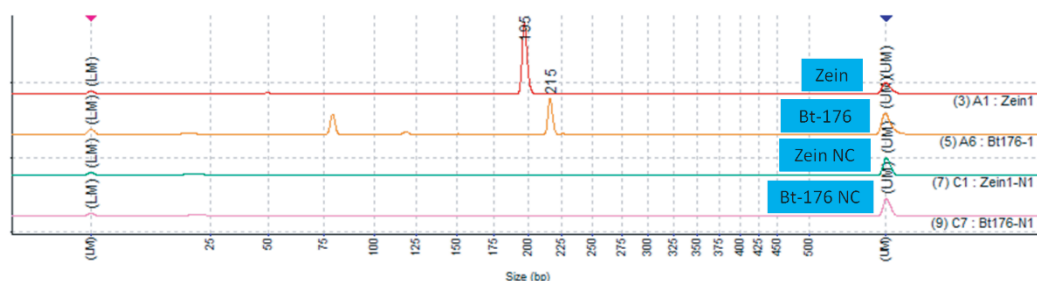


图2 MultiNA检测转基因玉米Bt-176电泳图 (NC: 阴性对照)