



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 19495.4—2018  
代替 GB/T 19495.4—2004

## 转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应(PCR) 检测方法

Detection of genetically modified organisms and derived products—  
Qualitative real-time polymerase chain reaction(PCR) methods

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施



国家市场监督管理总局  
中国国家标准化管理委员会

发布

## 前 言

GB/T 19495《转基因产品检测》分为如下几部分：

- GB/T 19495.1 转基因产品检测 通用要求和定义；
- GB/T 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求；
- GB/T 19495.3 转基因产品检测 核酸提取纯化方法；
- GB/T 19495.4 转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应(PCR)检测方法；
- GB/T 19495.5 转基因产品检测 实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)检测方法；
- GB/T 19495.6 转基因产品检测 基因芯片检测方法；
- GB/T 19495.7 转基因产品检测 抽样和制样方法；
- GB/T 19495.8 转基因产品检测 蛋白质检测方法；
- GB/T 19495.9 转基因产品检测 植物产品液相芯片检测方法。

本部分为 GB/T 19495 的第 4 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 GB/T 19495.4—2004《转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法》。与 GB/T 19495.4—2004 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- 增加了植物内源基因的检测方法；
- 增加了转基因植物筛选基因的检测方法；
- 删除了结构基因检测方法,增加了大豆、玉米、油菜籽、棉花、水稻、马铃薯、亚麻和甜菜等作物的品系特异性检测方法。

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这些专利的责任。

本部分由全国植物检疫标准化技术委员会(SAC/TC 271)提出并归口。

本部分主要起草单位:中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国山东出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本部分主要起草人:黄新、高宏伟、李想、凌杏园、朱水芳、陈洪俊、潘良文、曹际娟、章桂明。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 19495.4—2004。

# 转基因产品检测

## 实时荧光定性聚合酶链式反应(PCR)

### 检测方法

#### 1 范围

GB/T 19495 的本部分规定了植物及其加工产品中转基因成分筛选和品系检测实时荧光定性聚合酶链式反应(PCR)检测方法有关的仪器设备、试剂和材料、检测步骤、质量控制、防污染措施以及方法的最低检出限。

本部分适用于大豆、玉米、油菜、水稻、棉花、马铃薯、亚麻、甜菜、苜蓿、番茄、木瓜、苹果、菊苣、剪股颖、烟草、李子、甜瓜、小麦、茄子和桉树等植物转基因筛选检测,也适用于大豆、玉米、油菜、棉花、水稻、马铃薯、亚麻、甜菜和木瓜等植物的品系特异性检测。

#### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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

GB/T 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求

GB/T 19495.3 转基因产品检测 核酸提取纯化方法

GB/T 19495.7 转基因产品检测 抽样和制样方法

GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

#### 3 术语、定义和缩略语

##### 3.1 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

###### 3.1.1

**转基因 transgene**

将物种本身具有的或来源于其他物种的功能 DNA 序列,通过生物工程技术,使其在该物种中进行转录或表达,以便使该物种获得新的品种特征的技术。

###### 3.1.2

**实时荧光 PCR real-time polymerase chain reaction**

实时荧光聚合酶链式反应。在聚合酶链式反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 进程,并通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。

注:荧光信号的强弱直接反映模板数量。

###### 3.1.3

**内源基因 endogenous gene**

在检测物种中拷贝数恒定的、不显示等位基因变化的基因。

注:该基因可用于判定物种特异性。

#### 3.1.4

##### 外源基因 exogenous gene

利用生物工程技术转入的其他生物基因。

注：转入外源基因后，该生物品种表现新的生物学性状。

#### 3.1.5

##### Ct 值 cycle threshold

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

### 3.2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Alfalfa-Acc: 苜蓿乙酰辅酶 A 羧化酶 (Alfalfa Acetyl-CoA carboxylase)

BAR: 磷化麦黄酮乙酰转移酶基因 (phosphinothricin acetyltransferase gene)

bp: 碱基对 (base pair)

CP4-EPSPS: 农杆菌 CP4 蛋白基因和 5-莽草酸-3-磷酸合成酶基因 (Agrobacterium tumefaciens strain CP4 Product: herbicide tolerant form of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase)

Cry I A(c): 苏云晶芽孢杆菌杀虫蛋白 Cry I A(c) 基因 [Bacillus thuringiensis (Bt) subsp. Kurstaki crystal protein I A(c)]

Cry3A: 苏云晶芽孢杆菌杀虫蛋白 Cry3A 基因 [Bacillus thuringiensis (Bt) subsp. Tenebrionis crystal protein 3A]

CTAB: 十六烷基三甲基溴化铵 (cetyltrimethylammonium bromide)

DNA: 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)

dATP: 脱氧腺苷三磷酸 (deoxyadenosine triphosphate)

dCTP: 脱氧胞苷三磷酸 (deoxycytidine triphosphate)

dGTP: 脱氧鸟苷三磷酸 (deoxyguanosine triphosphate)

dNTP: 脱氧核苷三磷酸 (deoxyribonucleoside triphosphate)

dUTP: 脱氧尿苷三磷酸 (deoxyuridine triphosphate)

EDTA: 乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid)

EPSPS: 5-莽草酸-3-磷酸合成酶基因 (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene)

GAG56: 一种醇溶蛋白基因 (one of  $\gamma$ -gliadin genes)

GLuA3: 大米谷蛋白基因 (rice glutelin gene)

GOX: 草甘膦氧化还原酶基因 (glyphosate oxidoreductase gene)

LAT52: 花粉特异蛋白 LAT52 基因

Lectin: 植物凝集素基因

NPT II: 新霉素-3'-磷酸转移酶基因 (neomycin-3'-phosphotransferase gene)

PAT: 草丁膦乙酰转移酶基因 (phosphinothricin acetyltransferase gene)

PCR: 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)

PLD: 磷脂酶 D 家族基因 (phospholipase D family gene)

PMI: 6-磷酸甘露糖异构酶基因 (phosphomannose-isomerase gene)

pCaMV 35S: 花椰菜花叶病毒 35S 启动子 (35S promoter from cauliflower mosaic virus)

pFMV 35S: 玄参花叶病毒 35S 启动子 (35S promoter from a modified figwort mosaic virus)

pNOS: 来源于农杆菌的胭脂碱合成酶基因启动子 (promoter of nopaline synthase gene from Agrobacterium tumefaciens)

pSSuAra: 来自拟南芥的小亚基启动子 (the small subunit promoter of Arabidopsis)

- pTA29:来源于烟草的花蕊特异性 TA29 基因的发育调节启动子(developmentally regulated promoter from anther-specific TA29 gene from *Nicotiana tabacum*)
- pUbi:玉米泛素基因的启动子(promoter of maize Ubiquitin)
- SAH7:类拟兰芥属同源序列 7 的棉花内源基因(*sinapis arabidopsis* homolog 7 gene)
- SDS:十二烷基磺酸钠(sodium dodecylsulfate)
- SPS:蔗糖磷酸盐合成酶基因(sucrose phosphate synthase gene)
- Taq:DNA 聚合酶(*Taq* DNA polymerase)
- TE:三羟甲基氨基甲烷盐酸盐、乙二醇四乙酸二钠缓冲液(Tris-HCl、EDTA buffer)
- tE9:为来源于豌豆二磷酸核酮糖羧化酶基因的终止子
- Tris:三(羟甲基)氨基甲烷[tris(hydroxymethyl) aminomethane]
- tg7:谷氨酰胺转移酶 7 基因(transglutaminase 7 gene)
- tNOS:来源于农杆菌的胭脂碱合成酶基因终止子(terminator of nopaline synthase gene from *Agrobacterium tumefaciens*)
- tOCS:章鱼碱合成酶终止子(terminator of octopine synthase)
- t35S:花椰菜花叶病毒终止子(*Cauliflower mosaic virus* 35 terminator)
- UDG:尿嘧啶 DNA-糖基酶(uracil DNA glycosylase)
- UGPase:马铃薯 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶基因(UDP-glucose pyrophosphorylase gene from *Solanum tuberosum*)
- UNG 酶:尿嘧啶-N-糖基化酶(uracil-N-glycosylase)
- Wx012:小麦蜡质基因(waxy wheat genes)
- zSS II b:玉米淀粉合成酶 b 亚基[the endosperm-specific SS(starch synthase) II b]
- 18S rRNA:真核生物核糖体小亚基 18S 基因(18S ribosomal RNA)

## 4 方法原理

提取样品 DNA 后,通过实时荧光 PCR 技术对样品 DNA 进行筛选检测,根据实时荧光 PCR 扩增结果,判断该样品中是否含有转基因成分。对外源基因检测结果为阳性的样品,或已知为转基因阳性的样品,如需进一步进行品系鉴定,则对品系特异性片段进行实时荧光 PCR 检测,根据结果判定该样品中含有哪(些)种转基因品系成分。

## 5 仪器设备和试剂

### 5.1 仪器设备

- 5.1.1 实时荧光 PCR 仪。
- 5.1.2 样品粉碎仪或研磨机。
- 5.1.3 天平:感量 0.01 g。
- 5.1.4 水浴锅或恒温孵育器。
- 5.1.5 冷冻离心机。
- 5.1.6 高压灭菌锅。
- 5.1.7 涡旋振荡器。
- 5.1.8 生物安全柜。
- 5.1.9 pH 计。
- 5.1.10 核酸蛋白分析仪或紫外分光光度计。
- 5.1.11 微量移液器(2  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$ 、1 000  $\mu\text{L}$ )。

5.2 主要试剂

除特别说明外,所有试剂均为分析纯或生化试剂,实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规格。

5.2.1 实时荧光 PCR 预混液

为 *Taq* DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ L)、PCR 反应缓冲液、 $MgCl_2$  (3 mmol/L~7 mmol/L)、dNTPs(含 dATP、dUTP、dCTP、dGTP)、UNG 酶等混合配制的溶液。

5.2.2 ROX

荧光校正试剂(50 $\times$ ,使用时稀释至 1 $\times$ )。

5.2.3 引物和探针

5.2.3.1 筛选检测引物探针

筛选检测基因的引物和探针参照附录 A 中表 A.1 的序列合成,加超纯水配制成 100  $\mu$ mol/L 储备液,实时荧光 PCR 扩增的引物和探针工作液浓度为 10  $\mu$ mol/L。

5.2.3.2 品系特异性检测引物探针

根据需要检测的转基因植物品系,参照附录 B 中表 B.1 的序列合成引物和探针,加超纯水配制成 100  $\mu$ mol/L 储备液,实时荧光 PCR 扩增的引物和探针工作液浓度为 10  $\mu$ mol/L。

6 检测步骤

6.1 取样和制样

按照 GB/T 19495.7 中规定的方法执行。

6.2 样品 DNA 的提取与纯化

按照 GB/T 19495.3 的方法或采用具有相同效果的植物基因组 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取。每个样品应制备 2 个测试样品提取 DNA(提取平行重复)。

6.3 DNA 浓度测定和定量

按照 GB/T 19495.3 中规定的方法执行。

6.4 实时荧光 PCR 检测

6.4.1 转基因成分筛选检测基因的选择

对于未知是否为转基因产品的样品,按照表 1 选用筛选基因进行检测。

表 1 转基因筛选检测基因选用

| 物种      | 选用基因                                                                                                                                           |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 大豆及其加工品 | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, BAR, PAT, GOX, CP4-EPSPS, CTP2-CP4-EPSPS, tE9                                                                 |
| 玉米及其加工品 | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, BAR, PAT, GOX, CP4-EPSPS, CTP2-CP4-EPSPS, Cry3A, tCaMV 35S, PMI, Cry I A(b), CRY I A(c), pRice-Eactin |

表 1 (续)

| 物种       | 选用基因                                                                                                                               |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 油菜及其加工品  | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, BAR, PAT, GOX, CP4-EPSPS, CTP2-CP4-EPSPS, pNOS, pSSuAra, pTA29, tCaMV 35S, tE9, tOCS, tg7 |
| 水稻及其加工品  | 内源基因, pCaMV 35S, tNOS, BAR, Cry I A(b), CRY I A(c)                                                                                 |
| 棉花及其加工品  | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, BAR, PAT, CP4-EPSPS, pUbi, tE9, Cry I A(b), CRY I A(c)                                    |
| 马铃薯及其加工品 | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, CP4-EPSPS, Cry3A, pNOS                                                                    |
| 亚麻及其加工品  | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                            |
| 甜菜及其加工品  | 内源基因, pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, PAT, CP4-EPSPS, CTP2-CP4-EPSPS                                                            |
| 苜蓿及其加工品  | 内源基因, pFMV 35S, CTP2-CP4-EPSPS, tE9                                                                                                |
| 番茄       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, CRY I A(c)                                                                                      |
| 苹果       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                                  |
| 菊苣       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, BAR, NPT II                                                                                             |
| 剪股颖      | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, CP4-EPSPS                                                                                               |
| 烟草       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                                  |
| 李子       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                                  |
| 甜瓜       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                                  |
| 木瓜       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                                  |
| 小麦       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, CP4-EPSPS                                                                                               |
| 茄子       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II, CRY I A(c)                                                                                      |
| 桉树       | pCaMV 35S, pFMV 35S, tNOS, NPT II                                                                                                  |

## 6.4.2 实时荧光 PCR 反应体系

实时荧光 PCR 反应体系配制见表 2。每个样品设置 2 个平行重复。

表 2 实时荧光 PCR 检测体系

| 名称                | 储液浓度       | 终浓度          |
|-------------------|------------|--------------|
| 10×PCR 缓冲液        | 10×        | 1×           |
| MgCl <sub>2</sub> | 25 mmol/L  | 2.5 mmol/L   |
| dNTP(含 dUTP)      | 2.5 mmol/L | 0.2 mmol/L   |
| UNG 酶             | 5 U/μL     | 0.075 U/μL   |
| 上游引物              | 10 μmol/L  | 见表 A.1、表 B.1 |
| 下游引物              | 10 μmol/L  | 见表 A.1、表 B.1 |
| 探针                | 10 μmol/L  | 见表 A.1、表 B.1 |
| Taq 酶             | 5 U/μL     | 0.05 U/μL    |

表 2 (续)

| 名称                                                                                                                                                                                                                      | 储液浓度 | 终浓度            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|----------------|
| DNA 模板                                                                                                                                                                                                                  | —    | 50 ng~250 ng   |
| 超纯水                                                                                                                                                                                                                     | —    | 补足至 25 $\mu$ L |
| <p>注 1: 可选用含有 PCR 缓冲液、MgCl<sub>2</sub>、dNTP 和 <i>Taq</i> 酶等成分的基于 Taqman 探针的实时荧光 PCR 预混液进行实时荧光 PCR 扩增。</p> <p>注 2: ROX 荧光试剂仅在具有 ROX 校正通道的实时荧光 PCR 仪上进行扩增时添加, 否则用超纯水补足。</p> <p>注 3: 反应体系中各试剂的量可根据具体情况或不同的反应总体积进行适当调整。</p> |      |                |

6.4.3 实时荧光 PCR 反应程序

实时荧光 PCR 反应参数为: 50  $^{\circ}$ C/2 min; 95  $^{\circ}$ C/10 min; 95  $^{\circ}$ C/15 s, 60  $^{\circ}$ C/60 s, 40 个循环。

注: 95  $^{\circ}$ C/10 min 的专门适用于化学变构的热启动 *Taq* 酶。以上参数可根据不同型号实时荧光 PCR 仪和所选 PCR 扩增试剂体系不同作调整。

6.4.4 仪器检测通道的选择

将 PCR 反应管或反应板放入实时荧光 PCR 仪后, 设置 PCR 反应荧光信号收集条件, 应与探针标记的报告基团一致。具体设置方法可参照仪器使用说明书。

6.4.5 实验对照的设立

实验设置如下对照:

- 阳性对照, 为目标转基因植物品系基因组 DNA, 或含有上述片段的质粒标准分子 DNA;
- 阴性对照, 相应的非转基因植物样品 DNA;
- 空白对照, 设两个, 一是提取 DNA 时设置的提取空白对照 (以双蒸水代替样品), 二是 PCR 反应的空白对照 (以双蒸水代替 DNA 模板)。

7 结果判定

7.1 质量控制

下述指标有一项不符合者, 需重新进行实时荧光 PCR 扩增。

- 空白对照: 内源基因检测 Ct 值  $\geq 40$ , 外源基因或品系特异性检测 Ct 值  $\geq 40$ ;
- 阴性对照: 内源基因检测 Ct 值  $\leq 30$ , 转化事件特异性检测 Ct 值  $\geq 40$ ;
- 阳性对照: 内源基因检测 Ct 值  $\leq 30$ , 转化事件特异性检测 Ct 值  $\leq 35$ 。

7.2 结果判定

测试样品外源基因检测 Ct 值  $\geq 40$ , 内源基因检测 Ct 值  $\leq 30$ , 则可判定该样品不含所检基因或品系。

测试样品外源基因检测 Ct 值  $\leq 35$ , 内源基因检测 Ct 值  $\leq 30$ , 判定该样品含有所检基因或品系。

测试样品外源基因检测 Ct 值在 35~40, 应调整模板浓度, 重做实时荧光 PCR。再次扩增后的外源基因检测 Ct 值仍在 35~40, 则可判定为该样品含有所检基因或品系。再次扩增后的外源基因检测 Ct 值  $\geq 40$ , 则可判定为该样品不含所检基因或品系。

## 8 结果表述

结果为阳性的,表述为“检出×××外源基因”或“检出×××转基因品系”。

结果为阴性的,表述为“未检出×××外源基因”或“未检出×××转基因品系”。

对于核酸无法有效提取的样品,检测结果为“未检出核酸成分”。

## 9 防污染措施

检测过程中防止交叉污染的措施按照 GB/T 27403 和 GB/T 19495.2 中的规定执行。

## 10 最低检出限

各基因片段的实时荧光 PCR 扩增的最低检出限(LOD)为 0.01%。

## 附 录 A

(资料性附录)

## 转基因成分筛选检测实时荧光 PCR 引物和探针

转基因成分筛选检测用引物探针序列见表 A.1。

表 A.1 转基因成分筛选检测实时荧光 PCR 引物和探针序列信息表

| 序号 | 基因/品系名称    | 引物/探针序列(5'-3') |                                       | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp | 适用范围   |  |
|----|------------|----------------|---------------------------------------|---------------|------------|--------|--|
| 1  | 18S rDNA   | F              | cctgagaaacggctacca                    | 400           | 65         | 植物内源基因 |  |
|    |            | R              | cgtgtcaggattgggtaat                   | 400           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-tgcgcgcctgctgccttct-BHQ1          | 200           |            |        |  |
| 2  | HMGI/Y     | F              | ggtcgtcttcctaaggcgaaag                | 400           | 99         | 油菜内源基因 |  |
|    |            | R              | cttcttcggcggtcgtcac                   | 400           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-cggagccactcggtgccgcaact-BHQ1      | 200           |            |        |  |
| 3  | CruA       | F              | ggccagggtttccgtgat                    | 200           | 101        |        |  |
|    |            | R              | ccgtcgtttagaaccattgg                  | 200           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-agtccttatgtgtccactttctggtgca-BHQ1 | 200           |            |        |  |
| 4  | adh1       | F              | cgtcgtttcccatctcttctcc                | 300           | 135        | 玉米内源基因 |  |
|    |            | R              | ccactccgagaccctcagtc                  | 300           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-aatcagggtcattttctcgtctctca-BHQ1   | 200           |            |        |  |
| 5  | zSSⅡ b     | F              | ctcccaatcctttgacatctgc                | 500           | 151        |        |  |
|    |            | R              | tcgatttctctcttggtgacagg               | 500           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-agcaaagtcagagcgtgcaatgca-TAMRA    | 200           |            |        |  |
| 6  | Lectin     | F              | cctctcgggaaagttacaa                   | 150           | 74         | 大豆内源基因 |  |
|    |            | R              | gggcatagaaggtgaagtt                   | 150           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-ccctcgtctcttggtcgcgccctct-BHQ1    | 50            |            |        |  |
| 7  | Lectin-KVM | F              | cacctttctgcaccaattgaca                | 200           | 104        |        |  |
|    |            | R              | tcaaaactcaacgcgcac                    | 200           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-ccacaacacatgcaggttatcttg-BHQ1     | 200           |            |        |  |
| 8  | LAT52      | F              | agaccacgagaacgatatttgc                | 400           | 92         | 番茄内源基因 |  |
|    |            | R              | ttcttgccctttcatatccagaca              | 400           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-ctctttgcagtcctcccttggt-BHQ1       | 200           |            |        |  |
| 9  | SPS        | F              | cacctttctgcaccaattgaca                | 200           | 104        | 水稻内源基因 |  |
|    |            | R              | tcaaaactcaacgcgcac                    | 200           |            |        |  |
|    |            | P              | FAM-tccgagccgtccgtcgtc-BHQ1           | 200           |            |        |  |

表 A.1 (续)

| 序号 | 基因/品系名称     | 引物/探针序列(5'-3') |                                            | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp | 适用范围                                |
|----|-------------|----------------|--------------------------------------------|---------------|------------|-------------------------------------|
| 10 | PLD         | F              | tggtgagcgttttgcagtct                       | 200           | 64         | 水稻内源基因                              |
|    |             | R              | ctgatccactagcaggagggtcc                    | 200           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-tgttgtgctgccaatgtggcctg-BHQ1           | 200           |            |                                     |
| 11 | GOS         | F              | tggtgagcgttttgcagtct                       | 200           | 67         |                                     |
|    |             | R              | ctgatccactagcaggagggtcc                    | 200           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-tgttgtgctgccaatgtggcctg-BHQ1           | 200           |            |                                     |
| 12 | UGPase      | F              | ggacatgtgaagagacggagc                      | 400           | 88         | 马铃薯内源基因                             |
|    |             | R              | cctacctctaccctccgc                         | 400           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-ctaccaccattacctcgcacctctca-BHQ1        | 200           |            |                                     |
| 13 | SAH7        | F              | agttttaggttttgatgttacattgag                | 350           | 115        | 棉花内源基因                              |
|    |             | R              | gcacttttgaaccgcctactg                      | 250           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-aaacataaaaataatgggaacaacctgacatgt-BHQ1 | 175           |            |                                     |
| 14 | GLuA3       | F              | gacctccatattactgaaaggaag                   | 150           | 121        | 甜菜内源基因                              |
|    |             | R              | gagtaattgctccactctgttca                    | 150           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-ctacgaagtttaaagtatgtgccgctc-BHQ1       | 100           |            |                                     |
| 15 | GAG56       | F              | caacaattttctcagcccaaca                     | 200           | 121        | 小麦属内源基因                             |
|    |             | R              | tcttgcatgggttcacctgtt                      | 200           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-ttcccgcagcccaacaaccgc-BHQ1             | 200           |            |                                     |
| 16 | Wx012       | F              | gtcgcgggaacagaggtgt                        | 500           | 102        | 小麦种内源基因                             |
|    |             | R              | ggtgttctctcattgcgaaa                       | 500           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-caaggcggcgaaataagttgcc-BHQ1            | 200           |            |                                     |
| 17 | Alfalfa-Acc | F              | gatcagtgaacttcgcaaagtac                    | 400           | 90         | 苜蓿内源基因                              |
|    |             | R              | caacgacgtgaacactacaac                      | 400           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-tgaatgctctgtgatctgccatgc-TAMRA         | 200           |            |                                     |
| 18 | CHY         | F              | ccatgcggatcctcca                           | 500           | 74         | 木瓜内源基因                              |
|    |             | R              | catcgtagccattgtaacactagctaa                | 500           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-ttcccttcatccattccactcttgaga-BHQ1       | 200           |            |                                     |
| 19 | pCaMV 35S   | F              | gcctctgccgacagtgg                          | 100           | 82         | 转基因大豆、玉米、油菜、棉花、水稻、番茄、马铃薯、番木瓜等外源筛选基因 |
|    |             | R              | aagacgtggttgaacgtcttc                      | 100           |            |                                     |
|    |             | P              | FAM-caaagatggacccccaccacg-BHQ1             | 100           |            |                                     |

表 A.1 (续)

| 序号 | 基因/品系名称   | 引物/探针序列(5'-3') |                                           | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp | 适用范围                                 |
|----|-----------|----------------|-------------------------------------------|---------------|------------|--------------------------------------|
| 20 | pFMV 35S  | F              | cgaagacttaaagtttagtgggcatct               | 400           | 79         | 转基因大豆、油菜、马铃薯、番茄、玉米、棉花和苜蓿等筛选检测        |
|    |           | R              | ttttgtctgggtccccacaa                      | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-tgaaagtaatcttgtcaacatcgagcagctgg-BHQ1 | 200           |            |                                      |
| 21 | tNOS      | F              | atcggtcaaacatttggca                       | 400           | 165        | 转基因大豆、玉米、水稻、油菜、棉花、小麦、番茄、马铃薯、番木瓜等筛选检测 |
|    |           | R              | attgcgggactctaatacata                     | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-catcgcaagaccggcaacagg-BHQ1            | 200           |            |                                      |
| 22 | NPT II    | F              | aggatctcgtcgtgacccat                      | 400           | 183        | 转基因油菜、棉花、玉米、甜菜、番茄、马铃薯、番木瓜等筛选检测       |
|    |           | R              | gcacgaggaagcgggtca                        | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-cacccagccggccacagtcgat-BHQ1           | 200           |            |                                      |
| 23 | BAR       | F              | acaagcacggtcaacttc                        | 400           | 175        | 转基因油菜、玉米、小麦、棉花、水稻、大豆等筛选检测            |
|    |           | R              | actcgccggtccagtcgta                       | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-ccgagccgcaggaaccgcaggag-BHQ1          | 200           |            |                                      |
| 24 | PAT       | F              | gtcgacatgtctccggagag                      | 400           | 191        | 转基因油菜、玉米、棉花、大豆、甜菜等筛选检测               |
|    |           | R              | gcaaccaaccaagggtatc                       | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-tggccggtttgtgatatcgtaa-BHQ1           | 200           |            |                                      |
| 25 | GOX       | F              | gtcttcgtgttctggaaccgtt                    | 400           | 121        | 转基因油菜、玉米、甜菜等筛选检测                     |
|    |           | R              | gaactggcaggagcagagact                     | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-tgctcacgttctctactcgcgctcg-BHQ1        | 200           |            |                                      |
| 26 | CP4-EPSPS | F              | gcaaatcctctggcctttcc                      | 100           | 146        | 转基因油菜、大豆、玉米、棉花、马铃薯、甜菜、小麦等筛选检测        |
|    |           | R              | cttccccgtattgatgacgtc                     | 100           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-tcatgttcggcggtctcgcg-BHQ1             | 200           |            |                                      |
| 27 | Cry3A     | F              | Tccggttacgaggttctt                        | 400           | 86         | 转基因玉米、马铃薯等筛选检测                       |
|    |           | R              | ccatagatttgagcgtcctta                     | 400           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-acctatgctcaagctgccaacaccc-BHQ1        | 200           |            |                                      |
| 28 | pNOS      | F              | gtgaccttagcgacttttgaac                    | 340           | 79         | 转基因油菜、马铃薯                            |
|    |           | R              | cgcgggtttctggagttaa                       | 340           |            |                                      |
|    |           | P              | FAM-cgcaataatggtttctgacgtatgtgcttagc-BHQ1 | 400           |            |                                      |

表 A.1 (续)

| 序号 | 基因/品系名称    | 引物/探针序列(5'-3') |                                                | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp | 适用范围                                |
|----|------------|----------------|------------------------------------------------|---------------|------------|-------------------------------------|
| 29 | pSSuAra    | F              | ggcctaaggagaggtgtggaga                         | 340           | 95         | 转基因油菜、<br>对拟南芥是<br>内源基因             |
|    |            | R              | ctcatagataacgataagattcatggaatt                 | 340           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-ccttatcggttgaaccgtggaataa-BHQ1             | 400           |            |                                     |
| 30 | pTA29      | F              | gaagctgtgctagagaagatgtttattc                   | 340           | 117        | 转基因油菜、<br>对烟草是内<br>源基因              |
|    |            | R              | gctcgaagtatgcacatttagcaa                       | 340           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-agtccagccaccacattatgcaagtc-BHQ1            | 400           |            |                                     |
| 31 | pUbi       | F              | gagtagataatgccagcctgttaaac                     | 340           | 76         | 转基因棉花、<br>对玉米是内<br>源基因              |
|    |            | R              | acgcgacgtgctggtt                               | 340           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-cgtcgacgagtctaaccgacaccaac-BHQ1            | 400           |            |                                     |
| 32 | tCaMV 35S  | F              | ggggtttcttatatgctcaacacatg                     | 340           | 118        | 转基因玉米、<br>油菜                        |
|    |            | R              | tcaccagtctctctacaaatctatcac                    | 340           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-aaaccctataagaaccctaattccctatctggga-BHQ1    | 400           |            |                                     |
| 33 | tE9        | F              | tgagaatgaacaaaaggaccatata                      | 200           | 87         | 转基因玉米、大<br>豆、油菜、棉花、<br>对豌豆是内源<br>基因 |
|    |            | R              | ttttattcgggttttcgctatcg                        | 200           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-tcattaactcttccatccatttcatttcacagt-BHQ1     | 200           |            |                                     |
| 34 | tOCS       | F              | cggtaaacctaaaagactgattaca                      | 340           | 85         | 转基因油菜                               |
|    |            | R              | cgctcgggtgcgtagatact                           | 340           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-tcttattcaaatttcaaaagtccccaggg-BHQ1         | 400           |            |                                     |
| 35 | tg7        | F              | atgcaagtttaattcagaaatatttcaa                   | 340           | 97         | 转基因油菜                               |
|    |            | R              | atgtattacacataatatcgcaactagtct                 | 340           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-actgattatatacagctgggtacattgccgtagatga-BHQ1 | 400           |            |                                     |
| 36 | PMI        | F              | Cgggtgaatcagcgttt                              | 200           | 59         | 转基因玉米                               |
|    |            | R              | Gccgtggcctttgacagt                             | 200           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-tgccgccaacgaatcacccg-BHQ1                  | 200           |            |                                     |
| 37 | Cry I A(b) | F              | cgcgactggatcaggtaca                            | 400           | 75         | 转基因大米、玉<br>米、棉花等外源<br>筛选基因          |
|    |            | R              | tggggaacaggtcacgat                             | 400           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-ccgccgagctgaccctgaccgtg-BHQ1               | 200           |            |                                     |
| 38 | CRY I A(c) | F              | cggaaatcggtattcaattcaac                        | 400           | 71         | 任选其一，<br>转基因水稻、<br>玉米、棉花            |
|    |            | R              | ttctggactgcgaacaatgg                           | 400           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-acatgaacagcgcttgaccacagc-BHQ1              | 200           |            |                                     |
| 39 | CRY I A(c) | F              | gaccctcacagttttggacattg                        | 400           | 93         |                                     |
|    |            | R              | atttctctggttaagttgggacact                      | 400           |            |                                     |
|    |            | P              | FAM-tcccgaactatgactccagaacctaccctatcc-BHQ1     | 200           |            |                                     |

表 A.1 (续)

| 序号 | 基因/品系名称        | 引物/探针序列(5'-3') |                                             | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp | 适用范围                   |
|----|----------------|----------------|---------------------------------------------|---------------|------------|------------------------|
| 40 | pRice-Eactin   | F              | tcgaggtcattcatatgcttgag                     | 340           | 95         | 转基因玉米、<br>对大米是内<br>源基因 |
|    |                | R              | ttttaactgatgttttcacttttgacc                 | 340           |            |                        |
|    |                | P              | FAM-agagagtcgggatagtccaaaataaaacaaggta-BHQ1 | 400           |            |                        |
| 41 | CTP2-CP4-EPSPS | F              | gggatgacgttaattggctctg                      | 375           | 88         | 转基因大豆、玉<br>米、棉花、苜蓿     |
|    |                | R              | ggctgcttgaccgtgaag                          | 375           |            |                        |
|    |                | P              | FAM-cacgccgtggaacagaagacatgacc-BHQ1         | 150           |            |                        |

附 录 B  
(资料性附录)

转基因植物品系特异性实时荧光 PCR 检测引物探针

转基因植物品系特异性检测用引物探针序列见表 B.1。

表 B.1 转基因植物品系特异性实时荧光 PCR 检测引物和探针序列信息表

| 作物 | 品系名称      | 引物/探针序列(5'-3') |                                           | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp |
|----|-----------|----------------|-------------------------------------------|---------------|------------|
| 大豆 | GTS40-3-2 | F              | ttcattcaaaataagatcacatacacaggtt           | 150           | 84         |
|    |           | R              | ggcatttgtaggagccacctt                     | 150           |            |
|    |           | P              | FAM-ccttttcatttggg-MGBNFQ                 | 50            |            |
|    | MON89788  | F              | tccgctctagcgcttcaat                       | 150           | 139        |
|    |           | R              | tcgagcaggacctgcagaa                       | 150           |            |
|    |           | P              | FAM-ctgaaggcgggaaacgacaatttg-TAMRA        | 50            |            |
|    | A2704-12  | F              | gcaaaaaagcggttagctct                      | 400           | 64         |
|    |           | R              | attcaggctgcgaactgtt                       | 400           |            |
|    |           | P              | FAM-cggctcctccgatgccttcc-TAMRA            | 200           |            |
|    | A5547-127 | F              | gctatttggtggcattttcca                     | 400           | 75         |
|    |           | R              | cactggcgccaacttactct                      | 400           |            |
|    |           | P              | FAM-cgcgaatgcataccgtcatogttgt-TAMRA       | 200           |            |
|    | DP305423  | F              | cgtgttctcttttggctagc                      | 800           | 93         |
|    |           | R              | gtgaccaatgaatacacacacaaacta               | 500           |            |
|    |           | P              | FAM-tgacacaaatgatttcatacaaaagtcgaga-TAMRA | 220           |            |
|    | DP356043  | F              | gtcgaataggctaggtttacgaaaa                 | 750           | 99         |
|    |           | R              | tttgatattcttgagtagacgagagtgt              | 750           |            |
|    |           | P              | FAM-ctctagagatccgtcaacatggtggagcac-TAMRA  | 200           |            |
|    | MON87701  | F              | cgtttccgccttcagtttaa                      | 600           | 89         |
|    |           | R              | tggtgatatgaagatacatgcttagcat              | 600           |            |
|    |           | P              | FAM-tcagtgtttgacacacacactaagcgtgcc-TAMRA  | 250           |            |
|    | CV127     | F              | aacagaagtttccgttgagctttaagac              | 400           | 88         |
|    |           | R              | cattcgtagctcggtacgtgtac                   | 400           |            |
|    |           | P              | FAM-tttggggaagctgtcccatgcc-TAMRA          | 100           |            |
|    | MON87705  | F              | ttcccgacatgaagccatttac                    | 450           | 86         |
|    |           | R              | acaacggtgccttgcccaaag                     | 450           |            |
|    |           | P              | FAM-aagagactcagggtgtgttatcactcgcg-TAMRA   | 250           |            |

表 B.1 (续)

| 作物 | 品系名称     | 引物/探针序列(5'-3') |                                           | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp |
|----|----------|----------------|-------------------------------------------|---------------|------------|
| 大豆 | MON87769 | F              | catactcattgctgatccatgtagatt               | 600           | 87         |
|    |          | R              | gcaagttgctcgtgaagttttg                    | 600           |            |
|    |          | P              | FAM-cccggacatgaagccattacaattgac-TAMRA     | 200           |            |
|    | FG72     | F              | agatttgatcgggctgcagg                      | 400           | 70         |
|    |          | R              | gcacgtattgatgaccgcatta                    | 400           |            |
|    |          | P              | FAM-aatgtggttcacgtctt-MGBNFQ              | 200           |            |
|    | MON87708 | F              | tcatactcattgctgatccatgtag                 | 300           | 91         |
|    |          | R              | agaacaaattaacgaaagacagaacg                | 300           |            |
|    |          | P              | FAM-tcccggacttttagctcaaaatgcatgta-TAMRA   | 150           |            |
| 玉米 | GA21     | F              | cgttatgctatttgcaactttagaaca               | 150           | 112        |
|    |          | R              | gcgacccctcctcgctt                         | 150           |            |
|    |          | P              | FAM-tttctcaacagcaggtgggtccgggt-TAMRA      | 50            |            |
|    | NK603    | F              | atgaatgacctcgagtaagcttgtaa                | 150           | 108        |
|    |          | R              | aagagataacaggatccactcaaacact              | 150           |            |
|    |          | P              | FAM-tggtaccacgcgacacacttccactc-TAMRA      | 50            |            |
|    | Bt11     | F              | tgtgtggccatttatcatcga                     | 200           | 68         |
|    |          | R              | cgctcagtggaaacgaaaactc                    | 200           |            |
|    |          | P              | FAM-ttccatgacaaaaatccctaacgtgagt-TAMRA    | 150           |            |
|    | Bt176    | F              | ggccgtgaacgagctgtt                        | 300           | 82         |
|    |          | R              | gggaagaagcctacatgttttctaa                 | 300           |            |
|    |          | P              | FAM-agcaaccagatcgccgacacc-TAMRA           | 200           |            |
|    | MON810   | F              | tcgaaggacgaaggactctaactg                  | 300           | 92         |
|    |          | R              | gccaccttccttttccactatctt                  | 300           |            |
|    |          | P              | FAM-aacatcctttgccattgccagc-TAMRA          | 180           |            |
|    | MON863   | F              | gtaggatcggaagcttggtac                     | 150           | 70         |
|    |          | R              | tgttacggcctaaatgctgaact                   | 150           |            |
|    |          | P              | FAM-tgaacacccatccgaacaagtaggtca-TAMRA     | 50            |            |
|    | T25      | F              | acaagcgtgtcgtgctccac                      | 400           | 102        |
|    |          | R              | gacatgatactccttccacg                      | 400           |            |
|    |          | P              | FAM-tcattgagtcgttccgccattgtcg-TAMRA       | 200           |            |
|    | CBH351   | F              | Tgttactagatcgagatcctct                    | 400           | 96         |
|    |          | R              | ctagaaggcaattctaattgatc                   | 400           |            |
|    |          | P              | FAM-gtcgacctgcaggcatgcaaggaattccatt-TAMRA | 200           |            |

表 B.1 (续)

| 作物 | 品系名称     | 引物/探针序列(5'-3') |                                                 | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp |
|----|----------|----------------|-------------------------------------------------|---------------|------------|
| 玉米 | TC1507   | F              | tagtcttcggccagaatgg                             | 300           | 58         |
|    |          | R              | ctttgccaagatcaagcg                              | 300           |            |
|    |          | P              | FAM-taactcaaggccctcactccg-TAMRA                 | 150           |            |
|    | 59122    | F              | gggataagcaagtaaaagcgctc                         | 250           | 86         |
|    |          | R              | ccttaattctcgcctcatgacag                         | 250           |            |
|    |          | P              | FAM-tttaaactgaaggcgggaaacgacaa-TAMRA            | 200           |            |
|    | MIR604   | F              | gcgcacgcaattcaacag                              | 600           | 76         |
|    |          | R              | ggtcataacgtgactcccttaattct                      | 300           |            |
|    |          | P              | FAM-aggcgggaaacgacaatctgatcatg-TAMRA            | 200           |            |
|    | 3272     | F              | tcacagaccagattctctttatgg                        | 50            | 95         |
|    |          | R              | cgtttcccgcttcagttta                             | 900           |            |
|    |          | P              | FAM-actgtgacgcggcacaactg-TAMRA                  | 200           |            |
|    | LY038    | F              | tggttcagtcgcgaatgtt                             | 150           | 111        |
|    |          | R              | aggaattcgatatcaagcttatcga                       | 150           |            |
|    |          | P              | FAM-cgagcggagtttatgggtcgacgg-TAMRA              | 50            |            |
|    | MON89034 | F              | tttccatattgaccatcatactcatt                      | 450           | 77         |
|    |          | R              | cggatctatataatccgttggttttaa                     | 450           |            |
|    |          | P              | FAM-atecccggaattatgtt-MGBNFQ                    | 100           |            |
|    | MON88017 | F              | gagcaggacctgcagaagct                            | 150           | 95         |
|    |          | R              | tccggagtggaccatcca                              | 150           |            |
|    |          | P              | FAM-tcccgccttcagtttaacagagtcgggt-TAMRA          | 50            |            |
|    | 98140    | F              | gtgtgtatgtctctttgcttgcttt                       | 500           | 80         |
|    |          | R              | gattgtcgtttccgccttc                             | 500           |            |
|    |          | P              | FAM-ctctatcgatcccccttttgatagtttaaact-TAMRA      | 200           |            |
|    | MIR162   | F              | gcgcggtgtcatctatgttactag                        | 300           | 92         |
|    |          | R              | tgccttatctgttgccctcaga                          | 300           |            |
|    |          | P              | FAM-tctagacaattcagtacattaaaaacgtccgcca-TAMRA    | 150           |            |
|    | DAS40278 | F              | cacgaaccattgagttacaatc                          | 350           | 98         |
|    |          | R              | tggttcattgtattctgctttg                          | 350           |            |
|    |          | P              | FAM-cgtagctaacccttcattgtattccg-TAMRA            | 150           |            |
|    | MON87460 | F              | cacgttgaaggaaaatggattg                          | 600           | 82         |
|    |          | R              | tcgcgatcctcctcaaagac                            | 600           |            |
|    |          | P              | FAM-aggagatgttagataaaatttcaaagcgttagacggc-TAMRA | 250           |            |

表 B.1 (续)

| 作物 | 品系名称         | 引物/探针序列(5'-3') |                                              | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp |
|----|--------------|----------------|----------------------------------------------|---------------|------------|
| 棉花 | MON531       | F              | tccattcgagtttctcacgt                         | 150           | 72         |
|    |              | R              | aaccaatgccacccactga                          | 150           |            |
|    |              | P              | FAM-ttgtccctccactttctctc-TAMRA               | 50            |            |
|    | MON1445      | F              | ggagtaagacgattcagatcaaacac                   | 150           | 87         |
|    |              | R              | atcgacctgcagccaagct                          | 150           |            |
|    |              | P              | FAM-atcagattgtcgtttcccgccctcagttt-TAMRA      | 50            |            |
|    | MON15985     | F              | gttactagatcggggatatcc                        | 150           | 82         |
|    |              | R              | aaggttgctaaatggatggga                        | 150           |            |
|    |              | P              | FAM-ccgctctagaactagtggatctgcactgaa-TAMRA     | 50            |            |
|    | MON88913     | F              | ggctttggctaccttaagagagtc                     | 500           | 94         |
|    |              | R              | caaattaccattaagtagccaaattac                  | 500           |            |
|    |              | P              | FAM-aactatcagtggtttgactacat-MGBNFQ           | 100           |            |
|    | LLCotton25   | F              | cagattttgtgggattggaattc                      | 400           | 79         |
|    |              | R              | caaggaactattcaactgag                         | 400           |            |
|    |              | P              | FAM-cttaacagtactcgccgctgaccgc-TAMRA          | 200           |            |
|    | GHB614       | F              | caaatacacttggaacgacttcgt                     | 400           | 119        |
|    |              | R              | gcaggcatgcaagcttttaaa                        | 400           |            |
|    |              | P              | FAM-ctccatggcgatcgctacgttctagaatt-TAMRA      | 200           |            |
|    | 281-24-236   | F              | ctcattgctgatccatgtagatttc                    | 350           | 111        |
|    |              | R              | ggacaatgctgggctttgtg                         | 450           |            |
|    |              | P              | FAM-ttgggttaataaaagtcagattagaggagagaaa-TAMRA | 175           |            |
|    | 3006-210-23  | F              | aaatattaacaatgcattgagtatgatg                 | 400           | 90         |
|    |              | R              | actctttctttttctccatattgacc                   | 400           |            |
|    |              | P              | FAM-tactcattgctgatccatgtagatttccg-TAMRA      | 150           |            |
|    | T304-40      | F              | agcgcgcaactaggataaatt                        | 400           | 78         |
|    |              | R              | cctagatcttgggataacttgaaaaga                  | 400           |            |
|    |              | P              | FAM-tcgcgcggtgtcatctatctc-TAMRA              | 200           |            |
|    | GBH119       | F              | ccagtactaaaatccagatcatgca                    | 400           | 90         |
|    |              | R              | gaaattgcgtgactcaaattcc                       | 400           |            |
|    |              | P              | FAM-cctgcaggtcgacggccgagtag-TAMRA            | 200           |            |
| 水稻 | TT51-1(Bt63) | F              | agagactggtgatttcagcggg                       | 400           | 119        |
|    |              | R              | gcgtccagaaggaaaagggaata                      | 400           |            |
|    |              | P              | FAM-atctgccccagcactcgtccg-TAMRA              | 200           |            |

表 B.1 (续)

| 作物 | 品系名称       | 引物/探针序列(5'-3') |                                               | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp |
|----|------------|----------------|-----------------------------------------------|---------------|------------|
| 水稻 | LLRice62   | F              | agctggcgtaatagcgaagagg                        | 400           | 88         |
|    |            | R              | tgctaacgggtgcatcgtcta                         | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-cgcaccgattatttatacttttagtccacct-TAMRA     | 200           |            |
|    | LLRice601  | F              | tctaggatccgaagcagatcgt                        | 400           | 68         |
|    |            | R              | ggagggcgcgaggagtgt                            | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-ccacctccaacaataaaagcgctg-TAMRA            | 200           |            |
|    | 114-7-2    | F              | ccgacgaggaggaagac                             | 400           | 69         |
|    |            | R              | cgtttcccgccttcagttta                          | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-cggaggcgcgctcaaacactg-TAMRA               | 200           |            |
|    | Kefeng 6   | F              | gcttggatcagattgtcgttt                         | 400           | 154        |
|    |            | R              | gtcagataaactgattggtctgat                      | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-cgacaaaagatcaggatttggg-ECLIPSE            | 200           |            |
|    | Kefeng 8   | F              | atattctgaagtggcctgtt                          | 400           | 171        |
|    |            | R              | cgaccatgatgctgttctgc                          | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-cgttatttatgagatgggtgatctcaccatgcttg-TAMRA | 200           |            |
|    | KMD1       | F              | tccgcaatgtgttattaagttgtctaa                   | 300           | 78         |
|    |            | R              | ccgatatgcctgcccactct                          | 900           |            |
|    |            | P              | FAM-cgtcaattgtttacaccacaatatatcccg-TAMRA      | 100           |            |
| 油菜 | GT73(RT73) | F              | ccatattgaccatcactcattgct                      | 150           | 108        |
|    |            | R              | gcttatacgaaggcaagaaaagga                      | 150           |            |
|    |            | P              | FAM-ttcccggacatgaagatcatcctcctt-TAMRA         | 50            |            |
|    | MS8        | F              | gttagaaaaagtaacaattaatatagccgg                | 400           | 130        |
|    |            | R              | ggagggtgtttttggttacc                          | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-aatataatcgacggatccccgggaattc-TAMRA        | 200           |            |
|    | MS1        | F              | acgtgctggacatctacatt                          | 400           | 187        |
|    |            | R              | ctagatcggaagctgaagatgg                        | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-ctcattgctgatccacctagccgaatt-TAMRA         | 200           |            |
|    | RF1        | F              | ctaaggagggtcaagatgtagc                        | 400           | 113        |
|    |            | R              | cgggcctaacttttggtgtg                          | 400           |            |
|    |            | P              | FAM-ctcatcatcctcaccagtcagcatca-TAMRA          | 200           |            |
|    | RF2        | F              | gggtgagacaatatatcgacg                         | 200           | 104        |
|    |            | R              | gggcatcgcccggtgag                             | 200           |            |
|    |            | P              | FAM-caccggccaaattcgtcttagccgt-TAMRA           | 200           |            |

表 B.1 (续)

| 作物  | 品系名称         | 引物/探针序列(5'-3') |                                            | 终浓度<br>nmol/L | 产物大小<br>bp |
|-----|--------------|----------------|--------------------------------------------|---------------|------------|
| 油菜  | RF3          | F              | cataaaggaagatgggagacttgag                  | 400           | 139        |
|     |              | R              | agcatttagcatgtaccatcagaca                  | 400           |            |
|     |              | P              | FAM-cgcacgcttatcgaccataagccca-TAMRA        | 200           |            |
|     | Oxy-235      | F              | ctaacttttgggtgatgatgctga                   | 400           | 124        |
|     |              | R              | cgatagatgggtgtgtgagctcttg                  | 400           |            |
|     |              | P              | FAM-agctgatggcaagttaatctccccgaagtcg-DABCYL | 200           |            |
|     | T45          | F              | caatggacacatgaattatgc                      | 400           | 123        |
|     |              | R              | gactctgtatgaactgttcgc                      | 400           |            |
|     |              | P              | FAM-tagaggacctaacagaactcgccgt-TAMRA        | 200           |            |
|     | Topas19/2    | F              | gcggttctgtcagtt                            | 400           | 95         |
|     |              | R              | cgaccggcgctgatatatga                       | 400           |            |
|     |              | P              | FAM-tccccgctcatcggcgg-TAMRA                | 200           |            |
|     | 73496        | F              | gttcttctcttcatagctcattacagtttt             | 600           | 84         |
|     |              | R              | caaacctccatagagttcaacatcttaa               | 600           |            |
|     |              | P              | FAM-ttagttagatcaggatattcttg-MGBNFQ         | 250           |            |
|     | MON88302     | F              | tccttgaaccttattttatagtgcaca                | 450           | 101        |
|     |              | R              | tcagattgtcgtttccccgccttca                  | 450           |            |
|     |              | P              | FAM-tagtcatcatgttgtaccacttcaaacact-BHQ1    | 200           |            |
| 马铃薯 | EH92-527-1   | F              | gtgtcaaaacacaatttacagca                    | 300           | 134        |
|     |              | R              | tcctttaatttctccgctcatga                    | 300           |            |
|     |              | P              | FAM-agattgtcgtttccccgccttcagtt-TAMRA       | 160           |            |
| 亚麻  | Fp967        | F              | agcgcgcaaactaggataaa                       | 800           | 105        |
|     |              | R              | accttcggctcgaatgtcta                       | 800           |            |
|     |              | P              | FAM-cgcgcgcggtgtcatctatg-BHQ1              | 100           |            |
| 甜菜  | H7-1         | F              | tgggatctgggtggctctaact                     | 400           | 108        |
|     |              | R              | aatgctgctaaatcctgag                        | 400           |            |
|     |              | P              | FAM-aaggcgggaacgacaatct-TAMRA              | 100           |            |
| 木瓜  | Huanong No.1 | F              | gacgagtacaaggagacgcc                       | 400           | 174        |
|     |              | R              | gttgtcactgaagcgggaag                       | 400           |            |
|     |              | P              | FAM-tggctgctattgggcgaatcaactac-BHQ1        | 200           |            |

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
转基因产品检测  
实时荧光定性聚合酶链式反应(PCR)  
检测方法

GB/T 19495.4—2018

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 40 千字  
2018年9月第一版 2018年9月第一次印刷

\*

书号: 155066·1-61077 定价 24.00 元



GB/T 19495.4—2018

如有印装差错 由本社发行中心调换  
版权专有 侵权必究  
举报电话:(010)68510107