



中华人民共和国国家标准

GB/T 21103—2007

动物源性饲料中哺乳动物源性成分定性 检测方法 实时荧光 PCR 方法

Identification of mammal derived materials in animal-originated feedstuffs—
Real time PCR method

2007-10-24 发布

2008-04-01 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

前 言

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准主要起草单位：中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、宝生物工程(大连)有限公司、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、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：曹际娟、李晶泉、郑秋月、徐昊、张舒亚、于爱丽、王玉萍、陈颖、徐宝梁、高宏伟、宗卉、金东权。

本标准首次发布。

动物源性饲料中哺乳动物源性成分定性 检测方法 实时荧光 PCR 方法

1 范围

本标准规定了动物源性饲料中哺乳动物源性成分(包括牛、绵羊、山羊、猪、兔、鹿、马、驴、狗、猫等)实时荧光 PCR 检测方法,该检测方法的检出限为 0.1%。

本标准适用于动物源性饲料中哺乳动物源性成分的定性检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。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标准,然而,鼓励根据本标准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标准。

GB 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样(GB/T 14699.1—2005,ISO 6497:2002,IDT)

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

实时荧光 PCR real time PCR

实时荧光聚合酶链式反应。

3.2

Ct 值 cycle time

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。

4 原理

采用 TaqMan 实时荧光 PCR 技术,根据线粒体 DNA 的 12S 核糖体 RNA(12S ribosomal RNA, 12S rRNA)基因上哺乳动物与非哺乳动物种间序列差异而进行哺乳动物源性成分鉴定。利用裂解液破碎细胞,三氯甲烷抽提蛋白质,异丙醇沉淀得到 DNA;以提取的 DNA 为模板进行实时荧光 PCR 扩增。以实时荧光检测技术,采用多重 PCR 方法,将所用试剂配制成预混合形式,组建成实时荧光 PCR 哺乳动物 DNA 检测试剂盒。在同一反应管内对哺乳动物的 12S rRNA 基因及内参照基因同时进行扩增,并通过标记两种不同荧光物质 6-羧基荧光素(6-carboxyfluorescein, FAM)、5-六氯荧光素(5-hexachloro-fluorescein, HEX)的探针进行特异性杂交,两色荧光同步检测。其中,对内参照反应的检测,可以监控反应是否正常进行,防止假阴性结果。观察实时荧光 PCR 的增幅曲线,从而对动物源性饲料中哺乳动物源性成分进行快速检测。

5 试剂与材料

除另有规定外,试剂为分析纯或生化试剂,实验用水符合 GB 6682 的要求。