



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5334.3—2020

转基因植物产品的数字 PCR 检测方法 第 3 部分：转基因玉米

Protocol of digital PCR for quantitatively detecting genetically
modified plants and their derived products—
Part 3: Genetically modified maize

2020-12-30 发布

2021-07-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

以正式出版文本为准

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
转基因植物产品的数字 PCR 检测方法
第 3 部分：转基因玉米
SN/T 5334.3—2020

*

中国海关出版社有限公司出版发行
北京市朝阳区东四环南路甲 1 号（100023）
编辑部：（010）65194242-7509
网址 www.customskb.com/book
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 14 千字
2021 年 6 月第一版 2021 年 6 月第一次印刷
印数 1—000

*

书号：000·000 定价 14.00 元

前 言

SN/T 5334—2020《转基因植物产品的数字 PCR 检测方法》共分为 8 个部分：

- 第 1 部分：通用要求及定义；
- 第 2 部分：转基因大豆；
- 第 3 部分：转基因玉米；
- 第 4 部分：转基因油菜；
- 第 5 部分：转基因棉花；
- 第 6 部分：转基因马铃薯；
- 第 7 部分：转基因苜蓿；
- 第 8 部分：转基因甜菜。

本文件为 SN/T 5334—2020 的第 3 部分。

本文件按照 GB/T1.1—2020 给出的规则起草。

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。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国深圳海关食品检验检疫技术中心。

本文件主要起草人：凌杏园、潘广、朱鹏宇、付伟、向才玉、章桂明、朱水芳、黄文胜。

以正式出版文本为准

以正式出版文本为准

转基因植物产品的数字 PCR 检测方法

第 3 部分：转基因玉米

1 范围

本文件规定了玉米中转基因品系数字 PCR 定量检测方法。

本文件适用于玉米种子、叶片中 10 种转基因品系定量检测。本文件检测限参见附录 A。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

SN/T 5334.1 转基因产品定量检测数字 PCR 方法 第 1 部分：通用要求及定义

3 术语和定义

SN/T 5334.1 界定的术语与定义适用于本文件。

4 方法原理

见 SN/T 5334.1。

5 主要设备及试剂

5.1 内源基因和外源基因：内源基因为玉米高速泳动蛋白基因（HMG：high mobility group proteins）；外源基因为品系 98140、DAS40278-9、VCO-01981-5 和 MON87427 插入位点 5' 端跨边界序列，以及品系 BVLA430101、Bt799、IE034、12-5、C0010.3.7 和 C0030.3.5 插入位点 3' 端跨边界序列。引物及探针序列参见附录 A。

5.2 其他设备及试剂要求见 SN/T 5334.1 的规定。

6 方法操作步骤

6.1 一般性操作步骤

一般性操作步骤见 SN/T 5334.1 的规定。

6.2 数字 PCR 反应体系

实时荧光 PCR 反应体系配制见表 1。

表 1 数字 PCR 反应体系

试剂	终浓度
2 × ddPCR Super Mix	1 ×
内参基因上游引物	参见附录 A
内参基因下游引物	参见附录 A
内参基因探针	参见附录 A
品系上游引物	参见附录 A
品系下游引物	参见附录 A
品系探针	参见附录 A
DNA 模板	60 ng
水	补足至反应体系
注：推荐使用市面上现售的数字 PCR 平台进行实验	

6.3 数字 PCR 反应程序

其他要求见 SN/T 5334.1，数字 PCR 反应程序见表 2。

表 2 数字 PCR 反应程序

	反应温度	反应时间	循环数
热启动 ^a	50 ℃	2 min	1
	95 ℃	5 min	
热变性	95 ℃	15 s	40
退火 ^b	参见附录 A	60 s	
<p>a：根据不同数字 PCR 平台的要求，可以对反应程序中热启动步骤进行修改，但是不得修改热循环（扩增）步骤。</p> <p>b：根据不同数字 PCR 平台的要求，有可能要在热循环（扩增）步骤结束后进行后处理，可按照不同平台要求进行。</p>			

7 结果判定与表述

结果计算见 SN/T 5334.1。

结果表述如下：

- 检测结果中内标准基因与外源基因均符合阴性以及空白的质量控制要求，说明未检出玉米内源基因 Adh1，表述为“未检出玉米成分”；
- 检测结果中，内标准基因结果为阳性，但是外源基因符合阴性以及空白的质量控制要求，说明检出玉米内源基因 Adh1，但未检出 XXX 品系特异性序列，表述为“未检出玉米 XXX 转基因品系”；
- 检测结果中，内标准基因与外源基因组均符合试样数字 PCR 检测的质量控制要求，说明该转基因品系 XXX 检测为阳性且满足定量要求，表述为“检出玉米 XXX 转基因品系，含量为 XX%”。

8 防污染措施

防污染措施见 SN/T 5334.1 的规定。

9 样品保存

样品保存见 SN/T 5334.1 的规定。

以正式出版文本为准

附 录 A
(资料性附录)
引物探针序列、反应程序以及检测限

表 A.1 引物探针序列、反应程序以及检测限

基因 / 品系	名称	序列 (5'-3', 品系探针均用 5'FAM、3'BHQ-1 标记)	终浓度/ nM	退火温度/ T _m	定性检 测限	定量检 测限
Adh1	上游引物	TTGGACTAGAAATCTCGTGCTGA	300	60℃	—	—
	下游引物	GCTACATAGGGAGCCTTGCTCT	300			
	探针	HEX-CAATCCACACAAACGCACGCGTA-BHQ-1	180			
98140	上游引物	GTGTGTATGTCTCTTTGCTTGGTCTT	300	60℃ ¹	2	12
	下游引物	GATTGTCGTTTCCCGCCTTC	300			
	探针	CTCTATCGATCCCCCTCTTTGATAGTTTAAACT	180			
DAS40278-9	上游引物	CACGAACCAATTGAGTTACAATC	300	60℃ ¹	2	5
	下游引物	TGGTTCATTGTATTCTGGCTTTG	300			
	探针	CCTAGCTAACCTTCATTGTATTCCG	180			
VCO-01981-5	上游引物	AAGGCCTTCAGTCTACTCCTCGGG	300	60℃ ¹	2	5
	下游引物	CTAGCGGCCGCTACTCGAGGGATTT	300			
	探针	CGTCACCAAGAAGATCAGTACTCAAACAC	180			
MON87427	上游引物	ACGGAAACGGTCGGGTCAAATG	300	60℃ ¹	2	6
	下游引物	CCATGTAGATTTCCCGGTTTCTC	300			
	探针	TCGGGACAATATGGAGAAAAAGAAAGAG	180			
BVLA430101	上游引物	AATTGCGTTGCGCTCACT	500	60℃	3	10
	下游引物	GCAACACATGGGCACATACC	500			
	探针	CCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCC	250			
Bt799	上游引物	GTACCGTGGAATCCCTT	500	60℃	3	10
	下游引物	TAAGGTTTCGGTCCCAATTAC	500			
	探针	CCCGTCTCCTGTGAGATCAGCT	250			
IE034	上游引物	GAAGCAGGTCCCAGTATATTT	500	60℃	3	10
	下游引物	TTCGGCGTTAATTCACTACA	500			
	探针	ACGCTTAGACAACCTAATAACACATTGCGG	250			
12-5	上游引物	GAATGCTAGAGCAGCTTGA	500	60℃	3	10
	下游引物	CTCGAGCTCAACCACATC	500			
	探针	AGATTGTCGTTTCCCGCCTTCAGT	250			
C0010.3.7	上游引物	CGGTCCCGTTTAAACCTAAT	500	60℃	3	10
	下游引物	TGGATTCAACAGCCTCA	500			
	探针	TTCCAGGCAGCTACGCTCTCAC	250			
C0030.3.5	上游引物	CGGTCCCGTTTAAACCTAAT	500	60℃	3	10
	下游引物	TGGATTCAACAGCCTCA	500			
	探针	TTCCAGGCAGCTACGCTCTCAC	250			



SN/T 5334.3—2020

书号: 000000 · 00
定价: 14.00 元