



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5334.2—2020

转基因植物产品的数字 PCR 检测方法 第 2 部分：转基因大豆

Protocol of digital PCR for quantitatively detecting genetically
modified plants and their derived products—
Part 2: Genetically modified soybean

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

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 2 部分。

本文件按照 GB/T 1.1—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，中华人民共和国大连海关技术中心，中华人民共和国沈阳海关技术中心，中华人民共和国广州海关技术中心、中华人民共和国青岛海关技术中心、中华人民共和国深圳海关食品检验检疫技术中心、中华人民共和国上海海关。

本文件主要起草人：曹际娟，郑秋月，肖西志，刘津，朱鹏宇，付伟，杨莉莉，徐君怡。

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 2 部分：转基因大豆

1 范围

本文件规定了进出口大豆中转基因品系特异性的数字 PCR（dPCR）定量检测方法。
本文件适用于大豆种子、叶片中转基因成分定量检测。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：内源基因为大豆植物凝集素基因（Lectin）；外源序列为 FG72、MON87769、MON87708、MON87705、DAS-44406-6、DAS-81419-2、356043、4305423、CV127、GTS 40-3-2、A5547-127、MON89788、A2704-12 品系外源基因插入位点 5' 端跨边界序列，以及 DAS68416-4 品系外源基因插入位点 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

数字 PCR 反应体系配制见表 1。

表 1 数字 PCR 反应体系

试剂 ¹	终浓度
2 × ddPCR Super Mix	1 ×
内参基因上游引物	参见附录
内参基因下游引物	参见附录
内参基因探针	参见附录
品系上游引物	参见附录
品系下游引物	参见附录
品系探针	参见附录
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，并针对市面上现售的不同数字 PCR 平台依据说明书调整反应体系的组分和最终体积，并保证表中所列组分的终浓度不变。	

6.3 数字 PCR 反应程序

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	95	5 min	1
热循环（扩增） ^b	94	见表 3	见表 3
	60	见附录	
<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，本后处理步骤按照不同数字 PCR 平台说明书进行。</p>			

表 3 不同转基因品系对应的变性时间及循环数

基因 / 品系	变性时间 /s	循环数
Lectin	15	49
FG72	15	49
MON87769	15	49
MON87708	15	49
MON87705	15	49
DAS-44406-6	15	49
DAS-81419-2	15	49
356043	15	44
305423	15	44
CV127	30	44

表 3（续）

基因 / 品系	变性时间 /s	循环数
GTS 40-3-2	30	44
A5547-127	15	49
MON89788	15	49
A2704-12	15	49
DAS68416-4	15	49

7 结果判定与表述

结果计算方法见 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，说明未检出大豆内源基因 Lectin，表述为“未检出大豆成分”；
- 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，说明检出大豆内源基因 Lectin，但未检出 XXX 品系特异性序列，表述为“未检出大豆 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“检出大豆 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。

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')	终浓度 / (mol/L)	退火时 间/s	定性检测 限 / μ L	定量检测 限 / μ L
Lectin	上游引物	CCTCCTCGGAAAGTTACAA	400	60	—	—
	下游引物	GGGCATAGAAGTGAAAGTT	400			
	探针	FAM-CCCTCGTCTCTTGCTCGCGCCTCT-BHQ1	200			
FG72	上游引物	AGATTTGATCGGGCTGCAGG	400	60	1.0	5.0
	下游引物	GCACGATTTGATGACCGCATTA	400			
	探针	FAM-AATGTGGTTTCATCCGTCTT-MGBNFQ	200			
MON87769	上游引物	CATACTCATTGCTGATCCATGTAGATT	400	60	1.5	7.0
	下游引物	GCAAGTTGCTCGTGAAGTTTTG	400			
	探针	FAM-CCCGGACATGAAGCCATTTACAATTGA-TAMRA	200			
MON87708	上游引物	TCATACTCATTGCTGATCCATGTAG	200	60	1.0	8.0
	下游引物	AGAACAAATTAACGAAAAGACAGAACG	200			
	探针	FAM-TCCCGGACTTTAGCTCAAAATGCATGTA-TAMRA	100			
MON87705	上游引物	TTCCCGGACATGAAGCCATTTAC	400	60	1.0	8.0
	下游引物	GCAACGGTGCTTGGCCCAAAG	400			
	探针	FAM-AAGAGACTCAGCGTGTTCCTTACTGCGG-MGBNFQ	200			
DAS-44406-6	上游引物	TTATTGTTCTTGTTCCTTCTTTAGG	400	60	1.0	8.0
	下游引物	CCTCAATTGCGAGCTTTCTAATTT	400			
	探针	FAM-ATTCCGACCTCCATGATGACCTTACCGTT-TAMRA	200			
DAS-81419-2	上游引物	TCTAGCTATATTTAGCACCTTGATTTTCAT	400	60	1.25	5.0
	下游引物	GCTTCAAGATCCCAACTTGCG	400			
	探针	FAM-ATCAACAGGCACCGATGCGCACCG-TAMR	200			
356043	上游引物	GTGGAATAGGCTAGGTTACGAAAAA	750	60	3.0	5.0
	下游引物	TTTGATATTCTTGGAGTAGACGAGAGTGT	750			
	探针	FAM-CTCTAGAGATCCGTCAACATGGTGGAGCAC-TAMRA	200			
305423	上游引物	CCTGTTCTCTTTTTGGCTAGC	800	60	3.0	6.0
	下游引物	GTGACCAATGAATACATAACACAAACTA	500			
	探针	FAM-TGACACAAATGATTTTCATACAAAAGTCGAGA-TAMRA	220			
CV127	上游引物	AACAGAAGTTCCGTTGAGCTTTAAGAC	800	40	1.8	5.0
	下游引物	CATTCGTAGCTCGGATCGTGTAC	800			
	探针	FAM-TTTGGGGAAGCTGTCCCATGCCC-TAMRA	250			
GTS 40-3-2	上游引物	TTCAATTCAAATAAGATCATACATACAGGTT	800	40	1.51	2.2
	下游引物	GGCATTGTAGGAGCCACCTT	800			
	探针	FAM-CCTTTTCCATTTGGG-MGBNFQ	250			

表 A.1 (续)

基因 / 品系	名称	序列 (5'-3')	终浓度 / (mol/L)	退火时 间/s	定性检测 限/ μ L	定量检测 限/ μ L
A5547-127	上游引物	GCTATTGCTGGCATTTTCCA	400	60	0.96	4.8
	下游引物	CACTGCCGGCCAATTACTTCT	400			
	探针	FAM-CGCAATGTCATACCGTCATCGTTGT-BHQ1	200			
MON89788	上游引物	TCCCGCTCTAGCGCTTCAAT	400	60	1.2	6.0
	下游引物	TCGAGCAGGACCTGCAGAA	400			
	探针	FAM-CTGAAGCGCGGAAACGACAATCTG-BHQ1	200			
A2704-12	上游引物	GAGTTATTATCAGCCAAGCATTC	400	60	1.28	6.4
	下游引物	GCAGCACATCCCCCTTTC	400			
	探针	FAM-AAGAGGCCCCGACCGACATAAGAA-BHQ1	200			
DAS68416-4	上游引物	ATTAAAAACGTCCGCAATGTGT	400	60	1.0	5.0
	下游引物	GTTTAAGAATTAGTTCTTACAGTTTATTGTTAG	400			
	探针	FAM-TTAAGTTGTCTAAGCGTCAATA-MGBNFQ	200			

以正式出版文本为准

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 2 部分：转基因大豆
SN/T 5334.2—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 0.75 字数 16 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 16.00 元



SN/T 5334.2-2020