



中国农业标准经典收藏系列

农业

转基因生物安全

标准

2011 版

农业部科技发展中心◎编

 中国农业出版社

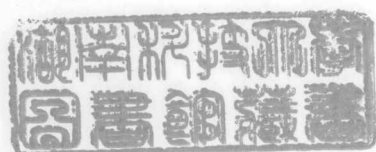


中国农业标准经典收藏系列

农业转基因生物安全标准

2011 版

农业部科技发展中心 编



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

农业转基因生物安全标准: 2011 版/农业部科技发展中心编. —北京: 中国农业出版社, 2011. 12

(中国农业标准经典收藏系列)

ISBN 978-7-109-16388-1

I. ①农… II. ①农… III. ①作物—转基因技术—安全标准—中国 IV. ①S33-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 271438 号



中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

责任编辑 刘 伟 李文宾

北京通州皇家印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2012 年 1 月第 1 版 2012 年 1 月北京第 1 次印刷

开本: 880mm×1230mm 1/16 印张: 34

字数: 1 079 千字

定价: 248.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

编委会名单

(按姓名笔画排列)

厉建萌	卢长明	刘 信	李 宁
李飞武	李允静	李葱葱	杨立桃
沈 平	宋贵文	张 明	张大兵
张永军	金芄军	周云龙	赵 欣
段武德	黄昆仑	崔金杰	崔野韩
彭于发	谢家建	路兴波	

前 言

《农业转基因生物安全管理条例》已于 2001 年发布实施。《条例》的实施在促进生物技术快速发展的同时，对农业转基因生物安全管理和检测工作也提出了更高的要求。为此，作为支撑管理和检测技术手段的转基因检测标准也受到农业部的高度重视。农业部 2004 年牵头成立了全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会，2005 年将转基因生物安全检测标准制订工作纳入部级农产品制标计划。截至目前，已发布 80 项农业转基因生物安全检测评价标准和技术规范。

为深入宣传和贯彻执行安全评价标准和技术规范，进一步推进我国农业转基因生物安全管理标准化，我们将农业部发布实施且现行有效的 80 项检测标准汇编成《农业转基因生物安全标准 2011 版》，以供相关研发单位、主管部门、检测机构及其工作人员参考。

本书按照标准的用途不同，分为产品成分检测类、环境安全检测类、食用安全检测类和标识类四个部分。同时，为了便于查阅，在每一部分又都是按时间排列的。

由于编者水平所限，难免会有疏漏和不妥之处，敬请批评指正！

编 者

二〇一一年十二月

目 录

前言

第一部分 产品成分检测类

转基因植物及其产品检测 通用要求 NY/T 672—2003	3
转基因植物及其产品检测 抽样 NY/T 673—2003	11
转基因植物及其产品检测 大豆定性 PCR 方法 NY/T 675—2003	21
转基因植物及其产品成分检测 抗虫和耐除草剂玉米 Bt11 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—3—2007	27
转基因植物及其产品成分检测 抗除草剂油菜 MS1、RF1 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—4—2007	33
转基因植物及其产品成分检测 抗除草剂油菜 MS8、RF3 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—5—2007	41
转基因植物及其产品成分检测 抗除草剂油菜 MS1、RF2 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—6—2007	49
转基因植物及其产品成分检测 抗虫和耐除草剂玉米 TC1507 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—7—2007	57
转基因植物及其产品成分检测 抗虫和耐除草剂玉米 Bt176 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—8—2007	63
转基因植物及其产品成分检测 抗虫玉米 MON810 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—9—2007	69
转基因植物及其产品成分检测 抗虫玉米 MON863 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—10—2007	75
转基因植物及其产品成分检测 抗除草剂油菜 GT73 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—11—2007	81
转基因植物及其产品成分检测 耐除草剂玉米 GA21 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—12—2007	87
转基因植物及其产品成分检测 耐除草剂玉米 NK603 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—13—2007	93
转基因植物及其产品成分检测 耐除草剂玉米 T25 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 869 号公告—14—2007	99
转基因植物及其产品成分检测 抗虫玉米 Bt10 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 953 号公告—1—2007	105
转基因植物及其产品成分检测 抗虫玉米 CBH351 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 953 号公告—2—2007	111
转基因植物及其产品成分检测 耐除草剂油菜 T45 及其衍生品种定性 PCR 方法 农业部 953 号公告—3—2007	117

转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂油菜 Oxy-235 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 953 号公告—4—2007		123
转基因动物及其产品成分检测	促生长转 ScGH 基因鲤鱼定性 PCR 方法	
农业部 953 号公告—5—2007		129
转基因植物及其产品成分检测	抗虫转 <i>Bt</i> 基因水稻定性 PCR 方法	
农业部 953 号公告—6—2007		135
转基因植物及其产品成分检测	耐贮藏番茄 D2 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1193 号公告—1—2009		145
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂油菜 Topas19/2 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1193 号公告—2—2009		151
转基因植物及其产品成分检测	抗虫水稻 TT51 - 1 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1193 号公告—3—2009		157
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂棉花 MON1445 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—1—2010		163
转基因微生物及其产品成分检测	猪伪狂犬 TK ⁻ /gE ⁻ /gI ⁻ 毒株 (SA215 株) 及其产品 定性 PCR 方法	农业部 1485 号公告—2—2010
		171
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂甜菜 H7 - 1 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—3—2010		181
转基因植物及其产品成分检测	DNA 提取和纯化	
农业部 1485 号公告—4—2010		189
转基因植物及其产品成分检测	抗病水稻 M12 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—5—2010		201
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂大豆 MON89788 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—6—2010		209
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂大豆 A2704 - 12 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—7—2010		217
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂大豆 A5547 - 127 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—8—2010		225
转基因植物及其产品成分检测	抗虫耐除草剂玉米 59122 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—9—2010		233
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂棉花 LLcotton25 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—10—2010		241
转基因植物及其产品成分检测	抗虫转 <i>Bt</i> 基因棉花定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—11—2010		249
转基因植物及其产品成分检测	耐除草剂棉花 MON88913 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—12—2010		257
转基因植物及其产品成分检测	抗虫棉花 MON15985 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—13—2010		265
转基因植物及其产品成分检测	抗虫转 <i>Bt</i> 基因棉花外源蛋白表达量检测技术规范	
农业部 1485 号公告—14—2010		273
转基因植物及其产品成分检测	抗虫耐除草剂玉米 MON88017 及其衍生品种定性 PCR 方法	
农业部 1485 号公告—15—2010		279
转基因植物及其产品成分检测	抗虫玉米 MIR604 及其衍生品种定性 PCR 方法	

农业部 1485 号公告—16—2010	287
转基因植物及其产品成分检测 基体标准物质候选物鉴定方法	
农业部 1485 号公告—19—2010	295

第二部分 环境安全检测类

转基因大豆环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力检测 NY/T 719.1—2003	303
转基因大豆环境安全检测技术规范 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测 NY/T 719.2—2003	311
转基因大豆环境安全检测技术规范 第 3 部分：对生物多样性影响的检测 NY/T 719.3—2003	315
转基因玉米环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力检测 NY/T 720.1—2003	321
转基因玉米环境安全检测技术规范 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测 NY/T 720.2—2003	325
转基因玉米环境安全检测技术规范 第 3 部分：对生物多样性影响的检测 NY/T 720.3—2003	329
转基因油菜环境安全检测技术规范 第 1 部分：生存竞争能力检测 NY/T 721.1—2003	337
转基因油菜环境安全检测技术规范 第 2 部分：外源基因流散的生态风险检测 NY/T 721.2—2003	343
转基因油菜环境安全检测技术规范 第 3 部分：对生物多样性影响的检测 NY/T 721.3—2003	347
转基因植物及其产品环境安全检测 育性改变油菜 农业部 953 号公告—7—2007	353
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫水稻 第 1 部分：抗虫性 农业部 953 号公告—8.1—2007	361
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫水稻 第 2 部分：生存竞争能力 农业部 953 号公告—8.2—2007	367
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫水稻 第 3 部分：外源基因漂移 农业部 953 号公告—8.3—2007	373
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫水稻 第 4 部分：生物多样性影响 农业部 953 号公告—8.4—2007	377
转基因植物及其产品环境安全检测 抗病水稻 第 1 部分：对靶标病害的抗性 农业部 953 号公告—9.1—2007	385
转基因植物及其产品环境安全检测 抗病水稻 第 2 部分：生存竞争能力 农业部 953 号公告—9.2—2007	391
转基因植物及其产品环境安全检测 抗病水稻 第 3 部分：外源基因漂移 农业部 953 号公告—9.3—2007	397
转基因植物及其产品环境安全检测 抗病水稻 第 4 部分：生物多样性影响 农业部 953 号公告—9.4—2007	401
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫玉米 第 1 部分：抗虫性 农业部 953 号公告—10.1—2007	409
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫玉米 第 2 部分：生存竞争能力 农业部 953 号公告—10.2—2007	417
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫玉米 第 3 部分：外源基因漂移	

农业部 953 号公告—10.3—2007	421
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫玉米 第 4 部分：生物多样性影响	
农业部 953 号公告—10.4—2007	425
转基因植物及其产品环境安全检测 抗除草剂玉米 第 1 部分：除草剂耐受性	
农业部 953 号公告—11.1—2007	431
转基因植物及其产品环境安全检测 抗除草剂玉米 第 2 部分：生存竞争能力	
农业部 953 号公告—11.2—2007	435
转基因植物及其产品环境安全检测 抗除草剂玉米 第 3 部分：外源基因漂移	
农业部 953 号公告—11.3—2007	439
转基因植物及其产品环境安全检测 抗除草剂玉米 第 4 部分：生物多样性影响	
农业部 953 号公告—11.4—2007	443
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫棉花 第 1 部分：对靶标害虫的抗虫性	
农业部 953 号公告—12.1—2007	449
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫棉花 第 2 部分：生存竞争能力	
农业部 953 号公告—12.2—2007	457
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫棉花 第 3 部分：基因漂移	
农业部 953 号公告—12.3—2007	461
转基因植物及其产品环境安全检测 抗虫棉花 第 4 部分：生物多样性影响	
农业部 953 号公告—12.4—2007	465

第三部分 食用安全检测类

转基因植物及其产品食用安全检测 大鼠 90d 喂养试验 NY/T 1102—2006	473
转基因植物及其产品食用安全检测 抗营营养素 第 1 部分：植酸、棉酚和芥酸的测定	
NY/T 1103.1—2006	477
转基因植物及其产品食用安全检测 抗营营养素 第 2 部分：胰蛋白酶抑制剂的测定	
NY/T 1103.2—2006	481
转基因植物及其产品食用安全检测 抗营营养素 第 3 部分：硫代葡萄糖苷的测定	
NY/T 1103.3—2006	487
转基因生物及其产品食用安全检测 模拟胃肠液外源蛋白质消化稳定性试验方法	
农业部 869 号公告—2—2007	497
转基因生物及其产品食用安全检测 外源基因异源表达蛋白质等同性分析导则	
农业部 1485 号公告—17—2010	507
转基因生物及其产品食用安全检测 外源蛋白质过敏性生物信息学分析方法	
农业部 1485 号公告—18—2010	513
转基因植物及其产品食用安全性评价导则 NY/T 1101—2006	521

第四部分 标识类

农业转基因生物标签的标识 农业部 869 号公告—1—2007	529
---------------------------------------	-----

第一部分

产品成分检测类

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 672—2003

转基因植物及其产品检测 通用要求

Detection of genetically modified plant organisms and derived
products—General requirements

2003-04-01 发布

2003-05-15 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由农业部科技教育司提出。

本标准起草单位：中国农业科学院植物保护研究所、中国农业科学院生物技术所、农业部科技发展中心、中国农业大学。

本标准主要起草人：彭于发、王锡锋、李宁、张大兵、罗云波、黄昆仑、汪其怀、贾士荣。

本标准首次发布。

转基因植物及其产品检测 通用要求

1 范围

本标准规定了转基因植物及其产品检测的通用要求及转基因植物 PCR 检测实验室的操作规范。
本标准适用于转基因植物及其产品中转基因成分的检测。

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/T 15481—2000 检测和校准实验室能力的通用要求

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 673 转基因植物及其产品检测 抽样

NY/T 674 转基因植物及其产品检测 DNA 提取和纯化

NY/T 675 转基因植物及其产品检测 大豆定性 PCR 方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 一般术语 general terms

3.1.1

转基因生物 genetically modified organism(GMO)

通过基因工程技术改变基因组构成的生物。包括转基因植物、动物和微生物。

3.1.2

转基因植物 genetically modified plant organism(GMP), transgenic plant

通过基因工程技术改变基因组构成的植物,是转基因生物的一类。

3.1.3

定性检测极限 detection limit

以转基因生物(如种子)提取的 DNA 或标准双链 DNA 分子作为 PCR 反应的模板,所能检测到的脱氧核糖核酸(DNA)的极限(需要确保阳性样品的纯度,才能达到本标准检测方法的灵敏度)。

3.2 与 DNA 提取和纯化相关的术语 terms relative to extraction and purification of DNA

3.2.1

DNA 提取 DNA extraction

将 DNA 从一个样品的多种组分中分离出来。

3.2.2

DNA 纯化 DNA purification

获得不含 PCR 反应抑制因子的 DNA。

3.3 与 DNA 扩增和 PCR 技术相关的术语 terms relative to DNA amplification and to the PCR tech-

nique

3.3.1

DNA 扩增 DNA amplification

体外放大 DNA 分子拷贝数的生物学方法,如 PCR。

3.3.2

扩增子 amplicon

由 PCR 等 DNA 扩增方法产生的 DNA 片段。

3.3.3

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

模板 DNA 经高温变性为单链,在 DNA 聚合酶和适宜温度下,两条引物分别与模板 DNA 两条链上的一段互补序列发生退火,并在 DNA 聚合酶的催化下以四种 dNTP(deoxyribonucleoside triphosphate,脱氧核苷三磷酸)为底物,使退火引物延伸从而合成 DNA,如此变性、退火和合成 DNA 反复循环,使位于两段已知序列之间的 DNA 片段呈几何倍数扩增。

3.3.4

引物 primer

一定长度和顺序的寡核苷酸链。

3.3.5

筛查检测法 detection by screening

用多种转基因植物共有的标记基因、表达调控序列等通用元件对被检产品中是否含有转基因成分进行 PCR 检测的方法。

3.3.6

身份检测法 detection by identification

与标准品比较确定 GMO 身份的检测方法。

3.3.7

靶序列(目的 DNA) target sequence(target DNA)

PCR 反应中检测特异性扩增的 DNA 序列。

3.3.8

旁邻片段(边界序列) border fragment(border region, border sequence)

插入在染色体上的外源基因序列和宿主生物基因组片段连接的 DNA 片段。

3.3.9

终点法分析 endpoint analysis

一种定性、定量的分析方法,如 ELISA-PCR,可对 PCR 反应的扩增子进行定性和定量分析。

3.3.10

实时分析 real-time analysis

一种贯穿 PCR 反应过程,对 PCR 扩增效率、扩增情况及数据进行监控的定量 PCR 分析方法,如荧光探针的杂交过程的监控。

3.3.11

连接片段 junction fragment

两个不同功能基因序列之间的连接序列或片段。

3.4 与对照相关的术语 terms relative to controls

3.4.1

GMO 阳性对照 GMO positive control

用于 PCR 扩增的标准目的 DNA 或转基因植物源材料的 DNA 分子。

3.4.2

GMO 阴性对照 **GMO negative control**

用于 PCR 扩增的标准非转基因植物材料的 DNA 分子。

3.4.3

PCR 内部对照 **PCR internal control**

加入一种无关的 DNA 序列到纯化 DNA 的样品中,然后再进行 PCR 扩增,以检测是否存在 PCR 反应的抑制物质。

3.4.4

阳性 PCR 对照 **positive PCR control**

用含有目的序列的样品 DNA 进行 PCR 扩增。

3.4.5

阴性 PCR 对照 **negative PCR control**

用不含有目的序列的样品 DNA 进行 PCR 扩增。

3.4.6

PCR 空白对照 **PCR blank, negative reagent control**

以水或不含目的 DNA 试剂进行 PCR 反应,以验证 PCR 反应过程中不被污染。

3.4.7

阴性假定对照 **negative premise control**

在样品检测整个操作过程中,敞开 PCR 反应体系,以证明检测的操作环境中不含有目的基因片段的污染。

3.4.8

阴性提取对照 **negative extraction control**

以水作为材料提取 DNA,以证明 DNA 的抽提和制备过程中是否发生污染。

3.5 与探针相关的术语 **terms relative to probes**

3.5.1

探针 **probe**

在引物之间的与目的片段特异性杂交的 15 bp~30 bp 寡核核苷酸链。

3.5.2

内部探针 **internal probe**

标记的内部探针。

3.5.3

内标准基因(内源参照基因) **endogenous reference gene**

具有植物物种专一性且拷贝数恒定、不显示等位基因变化的保守 DNA 序列。可用于对基因组中某一目的基因进行定量分析和验证 PCR 反应体系中是否存在抑制物质。

4 原则

转基因生物及其产品的定性和定量 PCR 检测通常包括四个步骤:

——抽样:在一批物品中抽取具有代表性的材料,用于检测分析。

——样品 DNA 提取和纯化:样品 DNA 提取和纯化一般包括样品组织破碎、DNA 释放和 DNA 从其他化合物中纯化等几个步骤。

——DNA 扩增:对目的序列进行 PCR 扩增,得到 PCR 扩增产物。

——结果分析:对 PCR 产物进行定性或定量分析,确定试验样品是否含有转基因成分或确定转基因成分的含量。

5 实验室通用要求

5.1 一般要求

转基因植物及其产品检测实验室一般要求按 GB/T 15481—2000 执行。

5.2 特殊要求

转基因植物及其产品检测实验室分为三个区。

5.2.1 前 PCR 区

前 PCR 区专门用于准备各种 PCR 反应体系,此区域应保持清洁干净,而且没有来自分子克隆和样品准备的污染源,前 PCR 区的试剂、设备和正压活塞式移液器应是专用的。

5.2.2 样品准备区

样品准备区专门用于样品的制备,在制备和操作用于核酸提取的试剂时应采取以下预防措施:

- a) PCR 产物和带有要扩增的序列的 DNA 克隆不在该区域进行;
- b) 检测的样品都带入样品准备间处理,根据需要提取 DNA;
- c) DNA 样品用专门防护或正压活塞式移液器操作,防止在吸取样品时有气溶胶遗留;
- d) 大体积样品用单独包装的无菌一次性移液管吸取。

任何时候都应穿实验服和戴手套,手套要经常更换,尤其在提取 DNA 过程中每一步之间都要更换。实验服要专门用于样品准备间,经常清洗。

5.2.3 PCR 区

PCR 区专门用于 PCR 反应和反应后样品的处理,该区使用的所有试剂、一次性器材和仪器都是专用的。由于 PCR 实验室所遇到的主要污染源是前一次 PCR 过程的产物,因此前 PCR 区和 PCR 区之间试剂和人员不能混杂,实验室的交通方向是单向的,永远从“净区”到“脏区”。

6 试剂

6.1 通用要求

6.1.1 用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规格。

6.1.2 所有化学试剂如果没有特别说明,应没有 DNA 和核酸酶的污染,应不含 PCR 抑制剂。

6.1.3 所有试剂应按照说明书要求进行保存。

6.2 DNA 提取和纯化试剂

按 NY/T 674 执行。

6.3 DNA 扩增试剂

按 NY/T 675 执行。

7 仪器和设备

7.1 通用设备按 GB/T 15481—2000 执行。

7.2 所有仪器设备应避免植物 DNA 和核酸酶的污染。

7.3 所有仪器设备,尤其取样器等与试验样品接触的器具,应清洁、不对样品造成污染。

7.4 盛装样品的容器或包装袋应为一次性使用的,以避免交叉污染。

8 操作程序

8.1 通用要求