



中华人民共和国国家标准

GB/T 21104—2007

动物源性饲料中反刍动物源性成分 (牛、羊、鹿)定性检测方法 PCR 方法

Identification of Ruminantia derived materials
(Bovidae, Caprinae, Cervus) in animal-originated feedstuffs—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

本标准的附录 A 为资料性附录。

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。

本标准主要起草人：吴亚君、陈颖、徐宝梁、王晶、高宏伟、宗卉、曹际娟、黄文胜、袁飞、赵贵明。

本标准首次发布。

动物源性饲料中反刍动物源性成分 (牛、羊、鹿)定性检测方法 PCR 方法

1 范围

本标准规定了动物源性饲料中反刍动物(Ruminantia)源性成分(牛、羊、鹿)检测的 PCR 方法,该检测方法的检出限为 0.1% (质量分数)。

本标准适用于动物源性饲料中反刍动物源性成分(牛、羊、鹿)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

聚合酶链式反应 polymerase chain reaction; PCR

用于扩增位于两段已知序列之间 DNA(deoxyribonucleoside acid,脱氧核糖核酸)的方法。模板 DNA 经过高温变性成单链,在 DNA 聚合酶和适宜的温度下,两条互不互补的寡核苷酸片段即引物分别与模板 DNA 两条链上的一段互补序列发生退火,接着在 DNA 聚合酶的催化下以 4 种 dNTP(deoxyribonucleoside triphosphate,脱氧核苷酸三磷酸)为底物,使退火引物得以延伸,如此反复变性、退火和 DNA 合成这一循环,使位于两段已知序列之间的 DNA 片段呈几何倍数扩增,经 25 个~30 个扩增循环,扩增倍数达到约 10^6 。

4 原理

利用裂解液破碎细胞,三氯甲烷抽提蛋白质,无水乙醇沉淀得到 DNA;以提取的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物;PCR 阳性产物应用限制性内切酶酶切反应进行确证。

5 试剂和材料

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。

5.1 反刍动物源性成分检测用引物(对)序列为:

F:5'-TTTGGTCCCAGCCTTCCTGTT-3'

R:5'-CTTAGTCAAACCTTTCGTTT-3'

5.2 *Taq* DNA 聚合酶(*Taq*, *Thermus aquaticus*, 水生栖热菌)。

5.3 限制性内切酶:*AluI* 酶。