



中华人民共和国国家标准

GB/T 25165—2010

明胶中牛、羊、猪源性成分的定性检测方法 实时荧光 PCR 法

Protocol of identification of bovine, caprine, ovine and porcine derived
materials in gelatin—Real time PCR method

2010-09-26 发布

2011-05-01 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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
明胶中牛、羊、猪源性成分的定性检测方法
实时荧光 PCR 法
GB/T 25165—2010

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 7 千字
2010年11月第一版 2010年11月第一次印刷

*

书号: 155066·1-40627

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国畜牧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。

本标准主要起草人：陈颖、吴亚君、袁飞、王晶、徐宝梁、张舒亚、杨海荣、王斌、赵勇胜。

明胶中牛、羊、猪源性成分的定性检测方法

实时荧光 PCR 法

1 范围

本标准规定了明胶中牛、羊、猪源性成分的实时荧光 PCR 检测方法。

本标准适用于明胶中牛、羊、猪源性成分的定性检测。

该方法的检出限为 0.1%。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 6783 食品添加剂 明胶

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 27403—2008 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

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

在 PCR 反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号的积累实时监控整个 PCR 扩增过程。

3.2

Ct 值 cycle threshold

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

利用实时荧光 PCR 技术,根据不同物种的特异性基因序列对牛、羊、猪源性成分进行鉴定。利用裂解液破碎细胞,酚、三氯甲烷抽提蛋白质,异丙醇沉淀得到 DNA;以提取的 DNA 为模板进行内参照基因的实时荧光 PCR 检测,以确定样品 DNA 的提取效率;通过特异性引物和标记荧光物质探针进行牛、羊、猪源性成分的实时荧光 PCR 扩增,根据 PCR 扩增反应中每一个循环产物荧光信号的强弱判定,实现对明胶中牛、羊、猪源性成分的定性分析。

5 检测用引物和探针

内参照引物探针序列及牛、羊、猪特异性引物探针序列见表 1。