应用微芯片电泳法快速筛选转基因玉米

摘要:以抗蝶目害虫性转基因玉米为研究对象,使用玉米内源性基因 SSIIb 和转基因 M810 特异性引物进行 PCR 扩增,并运用岛津微芯片电泳仪 MultiNA 进行 PCR 产物的分析,建立了转基因玉米的鉴定方法。该方法操作简单,灵敏度高,可用于快速、高通量的转基因玉米的定性分析。

关键词: 微芯片电泳仪 MultiNA 转基因玉米 快速筛选

转基因玉米是通过人为改变玉米的基因使其拥有更好的性状的一种稻子结出来的玉米。一般如果不加以标记的话,是很难区别的。 它可能是更具有抗涝、抗旱、抗虫害等性质,这些对人体应该说是无害的,也可能是增加了玉米里的蛋白质含量等,这些对人则是有益的。在个别大鼠实验中,部分品种的转基因玉米会造成大鼠的不育症和肝脏病变,从而导致若干民间科研和环保团体质疑转基因食品的安全性,然而,目前没有充分的理论根据证明转基因食品对人类有害。

政府特别慎重批准转基因植物商业化,因为科学家不能完全预知对生物进行转基因改造 有可能导致何种突变,而对环境和人造成危害。虽然实验非常成熟,但其对人类可能造成的 影响,或许要在未来几代人后才显现。"水稻专家袁隆平说。因此如何有效快速地对转基因 品种进行定性分析,变成了摆在桌面上的迫在眉睫的问题。

本文采用岛津MultiNA微芯片电泳仪,参考GB/T19495.4-2004《转基因产品检测 核酸定性PCR检测方法》建立了抗蝶目害虫性转基因玉米品种的鉴定方法。该方法简单、快速、定量效果好,完全满足国家对转基因玉米定性分析的要求。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

MCE-202"MultiNA" 微芯片电泳仪

1.2 实验条件

DNA-500 组件(岛津制作所), P/N292-27910-91

SYBR Gold nucleic acid gel stain (Invitrogen), S11494

25bp DNALadder (Invitrogen), 10597-011

DNeasy Plant Maxi kit (QIAGEN), 66163

1.3 实验步骤

准备了 3 种认证标准物质的转基因玉米 (MON810 系统) 粉末样品 (图 1)。

从 DNA 提取开始, PCR 的条件遵照「JAS 分析试验指南转基因食品检查・分析手册的

基本操作篇」。使用QIAGEN公司的DNeasy Plant Maxi组件,从各1g粉末样品提取了DNA。测定提取DNA的浓度,根据测定值稀释为10 ng/uL,作为PCR的模板。用于PCR的引物分别针对玉米内源性基因 *SSIIb* 和转基因 M810。每个样品的提取物重复进行3次PCR。另外,还实施了阳性控制(玉米用标准质粒 DNA 作为模板进行PCR)和阴性控制(分别为:未加模板 DNA 和未加引物),最后使用 MultiNA 分析扩增得到的PCR 产物。

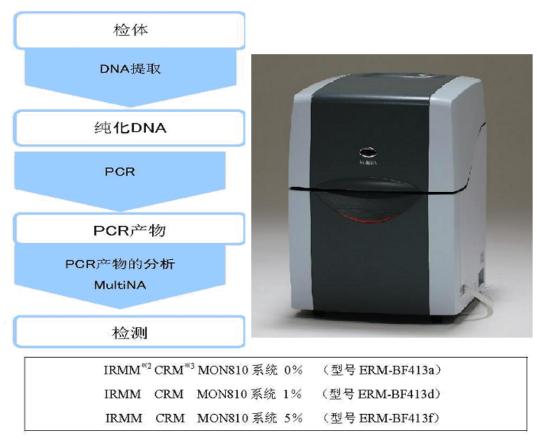
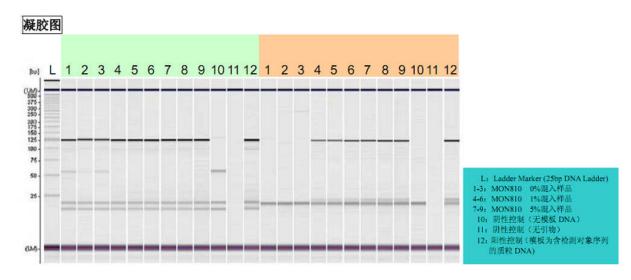


图 1 MultiNA 微芯片电泳仪和转基因玉米样品的分析流程(抗蝶目害虫性玉米)

2. 实验结果



电泳图

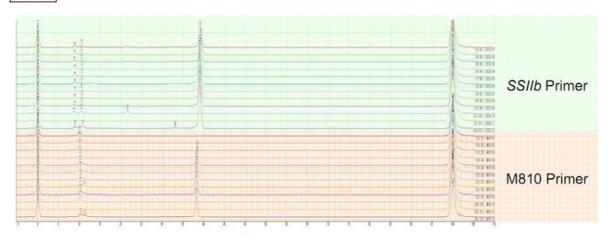


图2 转基因玉米的分析结果

从所有样品中都可以检测到玉米内在性基因 (*SSIIb* :114bp) (图 2), 这说明 DNA 提取以及 PCR 反应是正常的。另外,只在含 MON810 系统的样品中确认到转基因特异性谱带 (M810:113bp),并且实施的阳性和阴性对照实验都可确认电泳分析正常,说明此方法分析结果完全可靠。MultiNA 的测定结果可同时获得电泳图和凝胶图,所以能够二维地确认片段峰的有无及尺寸大小,方便可靠地判断目的基因的 PCR 扩增产物。

3. 结论

岛津 MultiNA 微芯片电泳检测系统能够自动灌胶、上样、电泳和使用软件收集数据,与普通的琼脂糖凝胶电泳,省时省力,可以有效地将实验人员从低效率、大强度的工作中释放出来,并且其控制软件能够校正各微芯片间的电泳差异,从最大程度上减少了实验的系统误差,并保证了高精度、高通量、高自动化程度等优点,尤其适用于大规模转基因作物的高通量定性分析。