

# 转基因作物及产品检测技术的研究进展

胡 坤,程 阳,栾凤侠

(黑龙江出入境检验检疫局,黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘要:**为了规范管理转基因产品,以建立转基因产品的检测技术标准为前提,通过分析转基因作物商业化的18 a 中转基因作物种植面积持续增长的态势,以核酸检测方法为主,介绍了基因芯片、PCR 技术、变性高效液相色谱和环介导等温扩增技术在转基因检测领域的研究进展,并对今后转基因检测技术标准的发展进行了展望。

**关键词:**转基因作物;检测;核酸;变性高效液相色谱;环介导等温扩增

中图分类号:S188

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)11-0135-05

1983 年,美国华盛顿大学成功地将卡那霉素抗性基因导入烟草细胞,威斯康星大学将大豆基因转入向日葵,从此拉开了植物转基因技术发展的序幕。自 1994 年,美国的转基因耐储藏番茄(FlavrSavr)获得农业部(USDA)和美国食品与药物管理局(FDA)批准进入市场销售。转基因作物开始全球商业化种植以来,其种植面积增长了 100 倍,增至 1.7 亿  $\text{hm}^2$  (见图 1),这一增长使

得转基因技术以可观的利润成为现代农业史上应用最迅速的作物技术。1996~2012 年,共有 59 个国家和地区得到监管机构批准进口转基因作物用于食物和饲料以及释放到环境中,涉及了 25 种作物及 319 个事件,共计 2 497 项审批<sup>[1]</sup>。2012 年,28 个国家的 1 730 万农民种植了 1.703 亿  $\text{hm}^2$  (4.2 亿英亩)的转基因作物,比 2011 年持续增长了 6%,即 1 030 万  $\text{hm}^2$  (2 500 万英亩)。

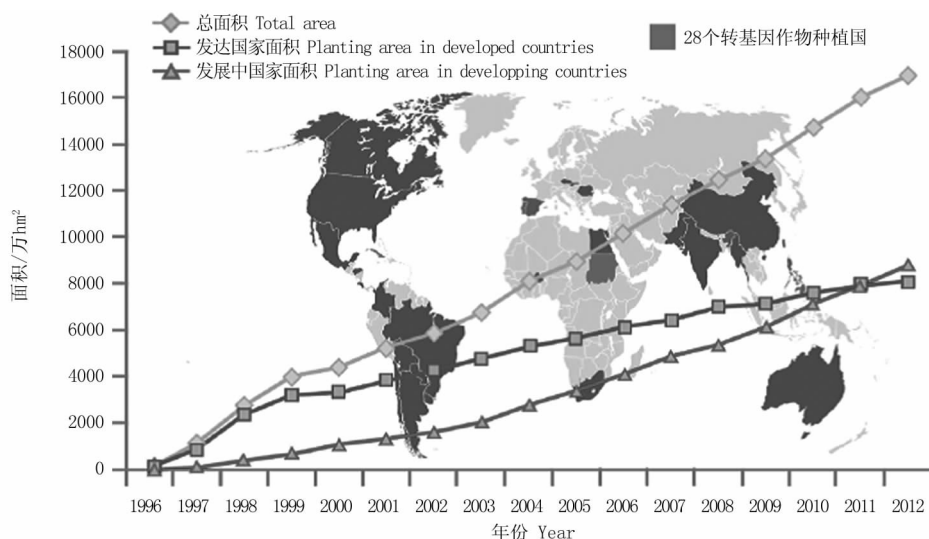


图 1 全球转基因作物种植情况<sup>[1]</sup>

Fig. 1 A graphical representation showing current global status of biotech crops

转基因作物的出现造成了公众关于转基因产品知情权的激烈讨论。为了防止转基因生物对环境及人类产生危害,维护消费者的知情权和选择权,超过 40 个国家和地区颁布法令,要求对转基因产品进行标识。例如,欧盟设立了对转基因食品进行标识的最低含量阈值,即当食品中某一成分的转基因含量超过该成分的转基因产品含量 0.9% 时,需进行标识<sup>[2]</sup>;我国规定了 17 种转基因

收稿日期:2013-05-21

基金项目:国家质检总局科研资助项目(2011IK200)

第一作者简介:胡坤(1982-),女,黑龙江省哈尔滨市人,博士,工程师,从事检验检疫研究。E-mail: hu\_cocoa@163.com。

通讯作者:栾凤侠(1963-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,教授级高级工程师,从事食品安全和转基因检测方法研究。E-mail:luanfengxia@163.com。

产品只要含有转基因成分就要求加贴标识,包括玉米种子、玉米油、马铃薯种子、大豆种子、豆油、棉花种子、油菜种子以及番茄酱等<sup>[3]</sup>。

为了对转基因产品进行安全性检验和标识管理,转基因检测技术逐步得到了发展。目前转基因作物检测技术主要有蛋白质检测法和核酸检测方法两大类。蛋白质检测方法往往不能检测加工食品,而且受目的蛋白质在转基因作物中的表达部位、表达时间及环境等的影响,限制了其应用;而核酸,尤其是 DNA,因其稳定性好,在加工过程中不易降解,故基于 DNA 水平的检测技术已成为转基因生物的主要检测方法。该研究主要以核酸检测法为重点,介绍转基因检测技术的研究进展。

## 1 基因芯片技术

基因芯片技术是将大量探针分子固定在支持物上,与标记的样品分子进行杂交,通过检测每个探针分子的杂交信号强度获取样品分子的数量和序列信息<sup>[4]</sup>。基因芯片不仅具有对转基因样品进行精确的定性检测的优点,而且能够一次单独分析样品中大量的、不同种类的转基因成分,具有高通量、集成化和自动化的特点。黄文胜等<sup>[5]</sup>利用基因芯片技术同时检测出油菜样品中所含的外源基因 *CaMV35S* 启动子、*Fmv35S* 启动子、*Nos* 终止子、*Banase* 基因、*Barstar* 基因、*CP4-Epsps* 基因、*Gox* 基因、*Pat* 基因和内源基因 *Fab*。Bai S 等<sup>[6]</sup>利用该技术检测出 6 种转基因玉米品系 (Bt11, Bt176, GA21, MON810, NK603, T25)。另外,基因芯片技术具有灵活性,当有新的转基因生物 (GMO) 出现时,在阵列增加布点,可将新的基因序列包含在筛查程序中<sup>[7]</sup>。但是基因芯片设备造价高,商品化试剂盒非常少,目前没有适用的标准,使得基因芯片检测法应用范围不广<sup>[8]</sup>。

## 2 PCR 技术

PCR 技术已经成为转基因作物及产品日常检测工作中应用最广泛的技术,国内以及国际发布的食品和饲料中转基因产品的检测标准方法大都采用的 PCR 技术原理,应用实时荧光定量 PCR 或普通 PCR 方法可以对检测样品进行定性和定量检测<sup>[9-12]</sup>,但是这些标准方法 1 次只能检测转基因作物及加工产品中的 1 种转基因成分,因而很多学者也对多重 PCR 检测方法开展了研究。

### 2.1 定性 PCR 检测

定性 PCR 检测转基因成分是应用最为广泛的一种方法,主要包括筛选检测和鉴定检测。筛选检测的主要筛选基因包括启动子、终止子、遗传标记基因和目的基因。1998 年,Shirai 等<sup>[13]</sup>利用定性 PCR 筛选检测方法对抗草甘膦大豆 Round-up-Ready 中 *Camv35s* 启动子和 *Nos* 终止子进行了检测,Michael 等<sup>[14]</sup>也通过此方法检测了转基因大豆、抗虫 Bt 玉米种子及深加工产品中 *Camv35s*、*Nos* 终止子及 *NptII* 基因,并利用 Southernblot 和酶切鉴定试验对结果进行了验证。

此外,定性 PCR 还可以对转基因产品进行品系鉴定。2002 年,Matsuoka 等<sup>[15]</sup>通过分析 7 种转基因玉米 Event176、Bt11、T25、MON810、GA21、DLL25 和 MON802 的外源基因序列,设计了 14 对检测启动子、终止子和结构基因的特异性引物,快速有效地检测了转基因玉米品种。曹际娟等<sup>[16]</sup>对转基因玉米及其粗加工食品,如爆米花、熟玉米棒及速溶玉米片进行了 PCR 定性检测,检测灵敏度达 0.1%。

### 2.2 定量 PCR 检测

定量 PCR 检测可用来检测样品中 GMO 的百分比。目前定量 PCR 方法主要有竞争性定量 PCR 方法 (QC-PCR) 和荧光定量 PCR 方法 (real-time PCR)。2002 年,Song 等<sup>[17]</sup>利用竞争性定量 PCR 定量检测了转基因玉米 MON810 和 Event176 中的转基因成分,最低检测 0.01%。Real-time PCR 是通过连续检测荧光信号的强弱来测定未知模板扩增产物的量的方法<sup>[18]</sup>。目前,荧光定量 PCR 方法被普遍用于转基因作物及其加工产品的转基因成分定量检测,检测灵敏度可达到 0.01%<sup>[19]</sup>~0.10% (W/W)<sup>[20-22]</sup>。

### 2.3 多重 PCR 检测

多重 PCR 是在普通 PCR 基础上的改进,通过在一个 PCR 反应体系中加入多对特异性引物,以多个 DNA 模板或同一模板的不同区域扩增多个目的片段<sup>[23]</sup>。多重 PCR 具有节省时间、降低成本和提高效率等优点,因此一经提出便得到众多研究者的青睐,发展迅速。

随着研究的深入,多重 PCR 已在植物分子育种、基因表达研究、种质纯度鉴定以及病虫害检测等方面得到广泛应用<sup>[24]</sup>。在大豆、玉米、水稻、小

麦和油菜等转基因植物以及相关产品的转基因成分检测中均已建立了有效可靠的多重 PCR 检测方法。Permingeat 等<sup>[25]</sup>利用多重 PCR 同时检测转基因玉米 *Bt176*、*MON810*、*Bt11* 和 *T25* 的 *CryIA(B)* 和 *Pat* 基因。2011 年,白月和栾凤侠<sup>[26]</sup>对转基因小麦品系 B73-6-1 建立了五重 PCR 检测体系,同时检测了转基因小麦中的内源基因 *Wx012*,外源基因 *Ubiquitin*、*Bar*、*Nos* 和 *Uida*,灵敏度达  $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,并用建立的多重 PCR 方法检测非转基因小麦京花 1 号籽粒、大豆籽粒、麦片以及转基因小麦 B73-6-1 加工成的油炸制品检测效果良好。2012 年,陶然等<sup>[27]</sup>建立了六重 PCR 反应体系,确立了转基因大豆 GT-40-3-2、Mon89788、A5704-12 三个品系同时筛选检测的方法,检测灵敏度为  $0.078 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,质粒检测灵敏度为  $1 \times 10^3$  拷贝  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,通过已知转基因阳性样品进行验证,效果良好。

此外,多重 PCR 在医学和遗传学上也具有非常重要的作用,可以同时检测乙肝病毒与丙肝病毒,对防治肝炎具有重要意义<sup>[28]</sup>。况少青等<sup>[29]</sup>以 *Taq Start TM* 抗体作为 *Taq* 酶保护剂,建立了多重 PCR 同时扩增多个微卫星位点,该方法产量高且成本低,在人类基因组计划中的基因作图、基因定位及人类进化等方面有重要作用。多重 PCR 在生命科学的各个领域已经成为一项成熟而重要的研究手段。

由于多重 PCR 在加入多对引物的同时,容易产生非特异性扩增,因此建立多重 PCR 检测方法的难点在于 PCR 引物的设计和 PCR 反应条件的优化<sup>[30]</sup>。

### 3 变性高效液相色谱技术

1995 年,Oefner 及 Underhill<sup>[31]</sup>等提出了变性高效液相色谱,又称核酸片段分析仪(DHPLC)技术,它是一种快速、自动和高通量检测核酸的技术平台。DHPLC 可以在不变性、充分变性及部分变性的温度条件下对样品进行分析,主要应用于基因突变的检测、未知 SNPs 筛查、微卫星分析、mRNA 定量分析和引物纯度检测等。它具有自动化程度高、高通量、灵敏度和特异性高以及快速等优点,也得到了广泛的应用。2010 年,Mounier J<sup>[32]</sup>用 DHPLC 进行了奶酪表面常见酵母品种的鉴别,2011 年,Le Fresne S 等<sup>[33]</sup>利用 DHPLC 快速有效地鉴别含有多种鱼类成分的热

加工鱼产品。

利用高效变性液相色谱结合多重 PCR 技术,可以对多重 PCR 产物进行快速分析,具有高通量、快速、简便、灵敏的特点。有研究报道,MPCR-DHPLC 技术被应用在医学领域,例如 Suwannasri P<sup>[34]</sup>用多重 PCR-DHPLC 的方法对泰国人的细胞色素 CYP2D6 基因进行分型测定;Zou HQ 等<sup>[35]</sup>利用 MPCR-DHPLC 的方法研究肌肉萎缩症(DMD)和脊髓性肌萎缩(SMA)基因的重复与缺失。同时,MPCR-DHPLC 方法也被用于食品致病菌的快速检测<sup>[36]</sup>。

利用 MPCR-DHPLC 方法也是快速、高通量检测转基因食品的很好的选择。在实际检测工作中,转基因食品往往成分复杂,例如麦片牛奶或奶米粉除含牛奶成份外,分别添加有大米粉、小麦粉、玉米粉(油)、大豆粉或卵磷脂(油)等多种成分,检测一份样品至少要检测多种内源基因(按照食品所含有的成分检验)和十几种外源基因,而使用现有的检验标准方法(主要是荧光 PCR 技术或普通 PCR 技术)来检测多组分多基因复杂成分的转基因食品,操作太繁琐,工作量大,通量低。因此,利用 DHPLC 能够区分不同长度 DNA 片段且特异性强的特点,将多重 PCR 技术与 DHPLC 技术相结合,检测转基因食品具有实际意义和应用价值。白月,栾凤侠等<sup>[37-40]</sup>建立的多重 PCR-DHPLC 方法,对玉米、番茄、小麦、马铃薯以及大米中转基因成分开展多组分多基因同时检测的研究,达到高通量、快速、准确检测转基因食品的目的。2012 年,研究人员根据转基因玉米外源和内源基因(*CaMV35S*, *NOS*, *Cry1Ac*, *Bar*, *Xa21* 和 *PEPCex*)设计 6 对引物,通过优化多重 PCR 和 DHPLC 的反应条件,建立一套同时快速筛选检测转基因大米中多种转基因成分(Bt 63、抗优 97、科丰 6 号、Llrice62)的 6 重 PCR-DHPLC 检测方法,该方法的检测灵敏度能够达到  $0.15 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ <sup>[41]</sup>。

### 4 环介导等温扩增(LAMP)技术

2000 年,日本学者 Notomi 在 *Nucleic Acids Res* 杂志上提出了一种新的基因诊断技术,即环介导等温扩增法(LAMP)<sup>[42]</sup>,其基本原理是针对待测基因靶序列的 6 个特异性区域设计 2 对引物,利用一种具有链置换活性的 DNA 聚合酶(*Bst* DNA polymerase)在恒温条件( $65^\circ\text{C}$ 左右)保温 30 ~ 60 min,可实现核酸的大量扩增。

LAMP 法是一种简便、快速、高特异的基因扩增法,不需要特殊的试剂和仪器设备。

LAMP 方法除了应用在病毒、细菌和寄生虫等引起的疾病检测<sup>[43]</sup>、食品致病菌检测<sup>[44]</sup>和物种鉴定<sup>[45-46]</sup>中,在转基因作物及产品检测方面的应用也被广泛的报道。2004 年,Shiro Fukuta<sup>[47]</sup>利用 LAMP 方法通过 *CaMV*-35S 启动子来检测转基因大豆;Chen X 等<sup>[48]</sup>建立了可以同时检测 3 种转基因水稻品系(KMD1、TT51-1 和 KF6)的 LAMP 方法;Chen L 等<sup>[49]</sup>利用 LAMP 方法检测建立了 7 种转基因玉米品系(DAS-59122-7、T25、BT176、TC1507、Mon810、BT11 和 MON863)的检测方法;Liu M 等<sup>[50]</sup>用 LAMP 方法检测了转基因大豆 RRS 品系;2012 年,叶蕾等<sup>[51]</sup>设计转基因大豆内源基因(*Lectin*)、外源基因(*NOS*)和 2 个转基因大豆品系(GTS 40-3-2、Mon89788)特异性 LAMP 引物,建立了快速检测转基因大豆以及鉴定转基因大豆品系的 LAMP 体系,检测底限最低可达到 0.01%。LAMP 技术因其成本低、耗时短、效率高、操作简单的优点,更适宜于基层检测单位或现场快速检测工作,应用 LAMP 技术对转基因作物筛选检测和品系鉴定的 SN/T 系列标准即将出台,具有广泛的应用前景。

## 5 结论

农业生物技术已为全球农业生产带来革命性的变化,今后将会有更多的转基因作物和新的作物品系出现并投入商业化生产。为了应对未来转基因作物的挑战,应以完善的转基因食品检测技术来健全检测标准方法,普及转基因检测的应用,从而对转基因食品进行有效的监管。适用于成分复杂的深加工产品,快速、高通量、精准的转基因检测方法和标准物质的研究将是今后研究工作的重点。

## 参考文献:

- [1] CLIVE J. Global status of commercialized biotech/GM Crops; 2012 [R/OL]. [2013-02-01]. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/44/executivesummary/default.asp>.
- [2] European Commission Regulation(EC)1829/2003 and 1830/2003. Off. J. Eur. Communities[Z]. 2003, L268:1-28.
- [3] 中华人民共和国农业部令. 农业转基因生物标识管理办法(第10号令)[Z]. 2002.
- [4] Ramsay G. DNA chips: state-of-the-art[J]. Nature biotechnology, 1998, 16(1): 40-44.
- [5] 黄文胜, 潘良文, 栗智平, 等. 转基因芯片检测转基因油菜[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(6): 588-592.
- [6] Bai S, Zhang J, Li S, et al. Detection of six genetically modified maize lines using optical thin-film biosensor chips [J]. 2010, 58(15): 8490-8494.
- [7] 刘全振, 夏栋, 陆利霞, 等. 转基因食品的检测方法进展[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(5): 161-164.
- [8] 周少芸. 转基因食品检测方法的研究进展[J]. 福建稻麦科技, 2007, 25(1): 43-45.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB19495-2004,《转基因产品检测》系列标准[S].
- [10] 农业部. 农业部 869 号公告《转基因植物及其产品成分检测》系列标准[S].
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T1202-2010, 食品中转基因植物成分定性 PCR 方法[S].
- [12] International Organization for Standardization. ISO 21569: 2005, Food stuffs-Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-Qualitative nucleic acid based methods[S].
- [13] Shirai N, Momma K, Ozawa S, et al. Safety Assessment of Genetically Engineered Food: Detection and Monitoring of Glyphosate-Tolerant Soybeans[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1998, 62(7): 1461-1464.
- [14] Michael E R, Tracy S L, Erika M W, et al. Detection and quantification of Round UP Ready soy in foods by conventional and realtime polymerase chain reaction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 5223-5232.
- [15] Matsuoka T, Kuribara H, Takubo K, et al. Detection of Recombinant DNA Segments Introduced to Genetically Modified Maize (*Zea mays*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 2100-2109.
- [16] 曹际娟, 陈明生, 卢行安. PCR 检测转基因玉米及其粗加工食品[J]. 玉米科学, 2001, 9(2): 87-91.
- [17] Song P, Cai C Q, Skokut M. Quantitative realtime PCR as a screening tool for estimating transgene copy number in WHISKERSTM derived transgenic maize [J]. Plant Cell Reports, 2002, 20: 948-954.
- [18] Wurz A, Bluth A P, Zeltz P, et al. Quantitative analysis of genetically modified organisms(GMO) in Processed food by PCR-based methods[J]. Food Control, 1999, 10: 385-389.
- [19] Christian A H, Junko S. Real Time Quantitative PCR[J]. Genome Research, 1996, 6: 986-994.
- [20] Randhawa G J, Chhabra R, Singh M. Decaplex and real-time PCR based detection of Mon531 and Mon15985 Bt cotton events[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(18): 9875-9881.
- [21] Hird H, Powell J, Johnson M L, et al. Determination of Percentage of Round UP Ready soya in soya flour using real-time Polymerase chain reaction: inter laboratory study[J]. AOAC International, 2003, 86(1): 66-71.
- [22] Permingeat H R, Reggiardo M L, Vallejos R H. Detection and quantification of transgenes in grains by multiplex and real-time PCR[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2002, 50(16): 4431-4436.
- [23] Yuanli Z, Dabing Z, Wenquan L, et al. A novel real-time

- quantitative PCR method using attached universal template Probe [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(20):123.
- [24] 叶增民,潘婕.转基因大豆及其制品的安全性研究现状[J].*生物技术通报*,2009(2):26-28.
- [25] Permingeat H R,Reggiardo M L,Vallejos R H. Detection and quantification of transgenes in grains by multiplex and real-time PCR[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*,2002,50(16):4431-4436.
- [26] 白月,栾凤侠.多重 PCR 结合变性高效液相色谱技术转基因小麦检测方法建立[J].*麦类作物学报*,2011,31(4)57:577-581.
- [27] 陶然,郭顺堂.应用 MPCR-DHPLC 技术检测转基因大豆及其食品[J].*大豆科学*,2012,31(6):976-979.
- [28] 王宁,韩金祥.多重 PCR 归化法平行检测 HBV 和 HCV 的研究[J].*中华实验和临床病毒学杂志*,2003,17(1):50-54.
- [29] 况少青,王建民.应用多重 PCR 进行微卫星荧光标记半自动基因组扫描[J].*中华医学遗传学杂志*,1998,15(2):104-107.
- [30] Germini A,Zanetti A,Salati C,et al. Development of a seven target multiplex PCR for the simultaneous detection of transgenic soybean and maize in feed and food[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(11):3275-3280.
- [31] Oefner P J,Underhill P A. Comparative DNA sequencing by denaturing high-performance liquid chromatography(DHPLC)[J]. *American Journal of Human Genetics*, 1995,57(suppl):A266.
- [32] Mounier J,Le Blay G,Vasseur V,et al. Application of denaturing high-performance liquid chromatography (DHPLC) for yeasts identification in red smear cheese surfaces[J]. *Letters in Applied Microbiology*,2010,51(1):18-23.
- [33] Le Fresne S,Popova M,Le Vacon F,et al. Application of denaturing high-performance liquid chromatography(DHPLC) for the identification of fish:a new way to determine the composition of processed food containing multiple species[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011,59(23):12302-12308.
- [34] Suwannasri P,Thongnoppakhun W,Pramyothin P,et al. Combination of multiplex PCR and DHPLC-based strategy for CYP2D6 genotyping scheme in Thais[J]. *Clinical Biochemistry*,2011,44(13):1144-1152.
- [35] Zou H Q,Zhao B J,Yan J,et al. Denaturing high-performance liquid chromatography coupled with multiplex PCR for rapid detection of large duplications or deletions in patients with Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy[J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2012,29(6):686-689.
- [36] 徐君怡,曹际娟,郑秋月.变性高效液相色谱检测沙门氏菌、空肠弯曲菌和肠出血性大肠杆菌[J].*生物技术通报*,2009(3):127-131.
- [37] 白月,才华,栾凤侠,等.多重 PCR 结合 DHPLC 方法检测番茄中转基因成分[J].*作物杂志*,2011(2):28-31.
- [38] 白月,栾凤侠.多重 PCR 结合变性高效液相色谱技术转基因小麦检测方法建立[J].*麦类作物学报*,2011,31(4):577-581.
- [39] 白月,栾凤侠,高宏伟.应用多重 PCR-DHPLC 方法快速检测转基因马铃薯及 EH92-527-1 品系鉴定[J].*中国马铃薯*,2011,25(3):129-134.
- [40] Feng Xia Luan,Ran Tao,Yi Gang Xu,et al. High-throughput detection of genetically modified rice ingredients in foods using multiplex polymerase chain reaction coupled with high-performance liquid chromatography method[J]. *European Food Research and Technology*, 2012, 234(4):649-654.
- [41] 吴静,李铁柱,孙瑶,等.应用 PCR-DHPLC 技术高通量快速检测转基因玉米[J].*玉米科学*,2012,20(5):40-44.
- [42] Notomi T,Okayama H,Masubuchi H,et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. *Nucleic Acids Research*,2000,28(12):E63.
- [43] Wei H,Zeng J,Deng C,et al. A novel method of real-time reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification developed for rapid and quantitative detection of human astrovirus[J]. *Journal of virological methods*, 2013, 188(1-2):126-131.
- [44] 国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2754. 1~15-2011,出口食品中致病菌环介导恒温扩增(LAMP)检测方法[S].
- [45] Vaagt F,Haase I,Fischer M. Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)-based method for rapid mushroom species identification[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2013,61(8):1833-1840.
- [46] Focke F,Haase I,Fischer M. Loop-Mediated Isothermal Amplification(LAMP):Methods for Plant Species Identification in Food[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2013,61(12):2943-2949.
- [47] Shiro Fukuta,Yuko Mizukami,Akira Ishida,et al. Real-time loop-mediated isothermal amplification for the CaMV-35S promoter as a screening method for genetically modified organisms[J]. *European food research and technology*,2004,218(5):496-500.
- [48] Chen X,Wang X,Jin N. Endpoint visual detection of three genetically modified rice events by loop-mediated isothermal amplification[J]. *International Journal of Molecular sciences*,2012,13(11):14421-14433.
- [49] Chen L,Guo J,Wang Q,et al. Development of the visual loop-mediated isothermal amplification assays for seven genetically modified maize events and their application in practical samples analysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2011,59(11):5914-5918.
- [50] Liu M,Luo Y,Tao R. Sensitive and rapid detection of genetic modified soybean(Roundup Ready)by loop-mediated isothermal amplification[J]. *Bioscience,Biotechnology, and Biochemistry*,2009,73(11):2365-2369.
- [51] 叶蕾,沈会平,闫鹤,等.实时浊度 LAMP 法检测豆制品中转基因成分[J].*食品与发酵工业*,2012(8):150-156.