

《国产大豆转基因成分的快速检测 环介导等温扩增（LAMP）检测方法》

编制说明

百沃特（天津）生物技术有限公司

2025 年 4 月

目 次

1 工作简况	1
1.1 任务来源	1
1.2 项目承担单位、起草人	1
1.3 简要起草过程	1
2 与我国有关法律法规和其他标准的关系	2
3 标准的制(修)订与起草原则	2
3.1 标准制定的总体原则	2
3.2 标准范围确定的原则	3
4 确定各项技术内容的依据	3
4.1 环介导等温扩增 (LAMP) 检测方法	3
4.1.1 方法的研制和实验条件的确定	3
4.1.2 实验室内验证 (技术指标要求) 和实验室间验证	12

1 工作简况

1.1 任务来源

随着生物育种的大力推广及应用，转基因作物、种子、食品等在实际种植及流转中面临巨大挑战，根据现阶段各资料查阅收集来看，我国关于转基因的检测有部分国家标准、地方标准等出台，但整体偏向专业实验室操作，对试验设备、操作人员等有较高要求。为满足基层在转基因产品的快速检测需求，近年来部分地方或行业协会发布了转基因快速检测方法的地方或行业标准，但尚无针对国产大豆转基因成分CP4-EPSPS和G2-EPSPS的快速检测方法。本标准建立的转基因成分CP4-EPSPS及G2-EPSPS的LAMP检测方法，操作简单、便捷，实验结果准确，较常规的免疫层析的蛋白快速检测方法检测灵敏度高，可为实际生产应用提供简便准确的技术方法支持。百沃特（天津）生物技术有限公司作为牵头单位承担《国产大豆基因成分的快速检测 环介导等温扩增（LAMP）检测法》标准的制定工作，项目立项文号为粮商协会[2025]***号。

1.2 项目承担单位、起草人

1.2.1 项目承担单位

本标准的承担单位为百沃特（天津）生物技术有限公司，主要负责标准文本的起草工作。

验证单位有北大荒粮食集团有限公司、黑龙江象屿农业物产有限公司2家单位参与，主要负责方法验证工作。

1.2.2 起草人及主要工作

起草人员负责标准制定工作的组织、协调，相关资料的查阅、收集，检测方法研究及方法学验证，标准文本及编制说明的起草、撰写，标准制定期间多次组织召开研讨会，通过电子邮件、传真等方式，征集、整理和归纳相关的意见和建议。

1.3 简要起草过程

百沃特（天津）生物技术有限公司作为牵头单位，负责收集相关的国内外法规和检测方法标准，与各参与单位通过分析、梳理、整合、研讨的方式确定实验方案及技术路线，继而开展验证、完善及建立相关方法学研究工作，建立国产大豆中转基因成分CP4-EPSPS、G2-EPSPS的环介导等温扩增（LAMP）快速检测的技术路线；研究探讨试验过程中发现的问题，对得到的数据结果进行汇总，最终形成CP4-EPSPS、G2-EPSPS的LAMP快速检

测方法。组织2家不同水平的检测机构对建立的方法进行协同性验证实验，并进一步对分析条件和文本内容进行完善，最终形成《国产大豆转基因成分的快速检测 环介导等温扩增（LAMP）检测法》标准文本及编制说明送审稿。

2 与我国有关法律法规和其他标准的关系

目前国内现有的关于粮食中CP4-EPSPS检测的标准有：GB/T 19495.4-2018 《转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应（PCR）检测方法》，具体提供了针对CP4-EPSPS的一组引物探针，实时荧光PCR反应体系和反应程序等，用于转基因油菜、大豆、玉米、棉花、马铃薯、甜菜、小麦等转基因CP4-EPSPS的筛选检测。广东省农业标准化协会发布T/G DNB 213-2024《农产品中转基因成分CP4-EPSPS的快速检测 胶体金免疫层析法》，具体试样经提取液提取后用加样至检测卡进行CP4-EPSPS蛋白的检测。尚无针对G2-EPSPS的具体检测方法标准。

目前对转基因核酸检测的方法，主要是国标方法，如GB/T 19495.4-2018 《转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应（PCR）检测方法》可在专业的PCR实验室中对转基因作物CP4-EPSPS基因进行定性检测，样品的前处理方法略复杂，对实验室及人员专业性要求较高，不适用于田间地头等的实地快速检测。本标准的制定提供了针对我国目前国产大豆的主要的两种转基因成分核酸的快速检测方法，操作简单便捷，结果准确，灵敏度高，对环境要求及人员操作要求较低，便于基层各应用场景的现成快速检测，满足市场及政府监管需求，有利于转基因食品安全及标识管理。

3 标准的制(修)订与起草原则

3.1 标准制定的总体原则

本标准的编写制定过程中以提高测试方法的选择性、精密度、检测限、准确度和分析效率为总原则，反映科学技术的先进成果和先进经验。在标准的制定过程中严格遵循国家有关方针、政策、法规和规章，标准的编写规则及表述按照GB/T 1.1-2020的要求编写。在标准制定过程中力求做到：技术内容的叙述正确无误；文字表达准确、简明、易懂；标准的构成严谨合理；内容编排、层次划分等符合逻辑与规定。

本标准编制遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”的原则，尽可能与国际通行标准接轨，注重标准的可操作性，严格按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》和GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的要求，参照《食品安全国家标准工作程序手册》进行编写。

标准的重要内容包括有：范围、规范性引用文件、试剂、仪器及材料、样品处理、样品检测、结果表述等内容。方法准确性高、快速、灵敏，能满足粮食中CP4-EPSPS、G2-EPSPS的检测要求，确保了方法的领先性和创新性。

3.2 标准范围确定的原则

在标准制定过程中，查阅了国内外有关文献资料，根据我国现有转基因粮食情况及实践中检测需求，国产大豆中转基因成分CP4-EPSPS、G2-EPSPS的快速检测方法缺乏，特建立了上述两种转基因成分的核酸LAMP快速检测方法，确定了本标准适用的检测对象为国产大豆。

3.3 检测方法选择的依据

CP4-EPSPS和G2-EPSPS是分别来自于土壤农杆菌CP4菌株和荧光假单胞菌的5-烯醇丙酮酰莽草酸-3-磷酸合酶（EPSPS），我国农业农村部现已批准的17个转基因大豆品种均使用CP4-EPSPS或G2-EPSPS。通过对大豆中转入CP4-EPSPS或G2-EPSPS基因，赋予作物对草甘膦除草剂的抗性，作物能在喷洒草甘膦后存活，而杂草被杀死从而减少杂草竞争，降低人工除草成本，提高作物产量。

2023年底农业部发布转基因玉米品种37个，转基因大豆品种14个，2024年发布转基因玉米品种27个，转基因大豆品种3个，2024年为我国转基因粮食种植元年。转基因粮食作物的种植对保障我国14亿人口的粮食供给，降低生产成本，推动我国农业可持续发展具有重要意义，另一方面也为我国的粮食安全、保障公众健康与安全、产业规范化发展等提出了任务与挑战。在做好公众认知引导的基础上，还需要加强转基因种子、作物、粮食等各环节的监管，就要求我们在各环节提供合适的技术支持及指导，根据不同场景需求提供多元化的产品应用及服务。目前国标各方法普遍基于正规实验室及高端科学试验设备等条件下的科研检测技术，难以向下推广应用。因此，为提供适用于基层现场的简便、快捷、准确的技术方法，特制定该标准方法，提供转基因核酸的LAMP检测方法。

4 确定各项技术内容的依据

4.1 环介导等温扩增（LAMP）检测方法

4.1.1 方法的研制和实验条件的确定

4.1.1.1 仪器与材料

4.1.1.1.1 水浴锅或加热模块：65℃ ± 0.5℃。

4.1.1.1.2 离心管：5mL、1.5mL、200 μl。

4.1.1.1.3 移液器：量程10-100 μl；量程100-1000 μl；量程1-5mL。

4.1.1.1.4 计时器。

4.1.1.1.5、天平：2000g/0.01g。

4.1.1.1.6：容量瓶：1L。

4.1.1.1.7：烧杯：1L。

4.1.1.1.8：玻璃棒：20cm。

4.1.1.1.9：真空冷冻干燥机。

4.1.1.2 试剂

除另有规定外，所有试剂均为分析纯或生化试剂。

4.1.1.2.1 试验用水：应符合GB/T 6682中的一级水。

4.1.1.2.2 CTAB（十六烷基三甲基溴化铵）

4.1.1.2.3 1M Tris-HCl（pH 8.0）

4.1.1.2.4 0.5M EDTA（乙二胺四乙酸二钠，pH 8.0）

4.1.1.2.5 NaCl（氯化钠）

4.1.1.2.6 dNTPs溶液：每种核苷酸浓度10 mmol/L

4.1.1.2.7 Bst DNA聚合酶大片段（如：NEB公司或具有同等效果的DNA聚合酶）：酶浓度8U/μL。

4.1.1.2.8 10×ThermoPol Reaction Buffer：含200 mmol/L Tris-HCl（pH 8.8）、100 mmol/L KCl、100 mmol/L (NH₄)₂SO₄、20mmol/L MgSO₄、1% Triton X-100。

4.1.1.2.9 MgSO₄溶液：150mmol/L。

4.1.1.2.10 甜菜碱溶液：5mol/L。

4.1.1.2.11 酚红溶液：10%。

4.1.1.3 溶液配制

4.1.1.3.1 裂解液 量取10mL 1M Tris-HCl（pH 8.0）、0.8mL EDTA（pH 8.0）、81.86g NaCl、2g CTAB加入烧杯中，加入约800 mL超纯水，搅拌溶解。用稀盐酸或NaOH调节pH至8.0，加超纯水定容至1L，混匀。

4.1.1.3.2 复溶液 量取10mL 10M Tris-HCl（pH 8.0）、2mL 0.5M EDTA（pH 8.0），加入烧杯中，加入800mL超纯水，搅拌混匀。用稀盐酸或NaOH调节pH至8.0，加超纯水定容至1L，混匀。

4.1.1.4 样本制备

本方法涉及的样品按国家标准GB/T 19495.7-2004《转基因产品检测 抽样和制样方法》进行抽样和制备，取0.20g±0.05g籽粒粉末于5mL离心管中，加4ml裂解液，上下颠倒混匀（

或涡旋混匀30秒）。取25μl裂解液加入一个新的1.5mL的离心管中，再向离心管中加入1mL复溶液中，上下颠倒混匀（或涡旋混匀10秒），备用。

4.1.1.5 LAMP方法的建立

4.1.1.5.1 CP4-EPSPS转基因LAMP方法的建立

4.1.1.5.1.1 LAMP引物序列设计

LAMP扩增含有四组基础引物，分别为内引物（FIP，BIP）和外引物（F3，B3），对应六个特定区域。根据CP4-EPSPS基因序列，使用LAMP引物在线设计软件LAMP primer designing software（LAMP primer designing software:PrimerExplorer）设计出三组引物，引物交由上海生工工程有限责任公司合成。具体引物序列见表1。

表1 LAMP引物序列

引物名称	引物序列5'-3'
1-F3	CGTACCATCCGTCTTGAAGG
1-B3	AGACGTGGGTTGATCACTTC
1-FIP	GCAGCAACCAATGGGAAAGCGAGTGGTAAGCTCACCGGTCA
1-BIP	CAGGTTCCGACGTCACCATCCCACCCATTTCTGCAGAGTC
2-F3	TGGGTCGTGTGTTGAACC
2-B3	TCACGAGTCATGATTGGCTC
2-FIP	AGTCTTTGGTCCACGCAAGGTGGTGTGCAGGTGAAGTCTG
2-BIP	AGGGTACCTATGGCTTCCGCTAGTGGTGATACCTGGGGTG
3-F3	TTCCAGGTGATCCATCCTCT
3-B3	GCACGGTCTTCTGGAACAG
3-FIP	CCAGTACGGGTTGGGTTTCATCACTTTCCCATTTGGTTGCTGC
3-BIP	CAGGAAATGGGTGCCGACATCGAGAACGAACACGCAAGTCAG

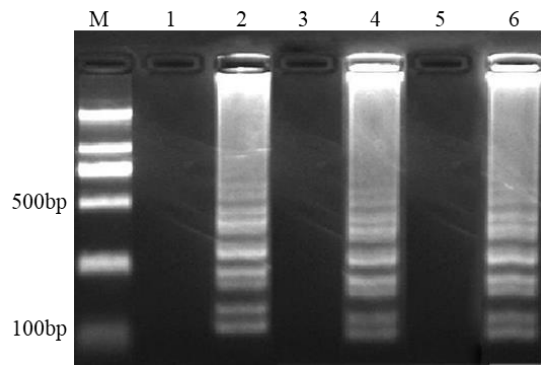
4.1.1.5.1.2 LAMP引物筛选确定

合成的引物经过离心后，按照说明书加入灭菌去离子水溶解，配制成100 μmol/L母液，分别取FIP和BIP母液各8μl，取F3和B3母液各1 μl，用灭菌去离子水补足20 μl，为引物混合溶液。使用U-LAMP通用型DNA快速扩增试剂盒，以标准物质转基因大豆DBN9004的DNA为模板，采用三组LAMP引物分别进行扩增。将扩增产物置于凝胶电泳检测，根据凝胶条带亮度判断最适LAMP引物，最终选择引物组合1，具体信息见表2，图1。

表2 最佳LAMP引物序列

引物名称	引物序列5'-3'
1-F3	CGTACCATCCGTCTTGAAGG
1-B3	AGACGTGGGTTGATCACTTC

1-FIP	GCAGCAACCAATGGGAAAGCGAGTGGTAAGCTCACCGGTCA
1-BIP	CAGGTTCCGACGTCACCATCCCACCCATTTCTGCAGAGTC



M: D2000 DNA标准分子量；1：第一组引物对照；2：第一组引物扩增条带；3：第二组引物对照；4：第二组引物扩增条带；5：第三组引物对照；6：第三组引物扩增条带；

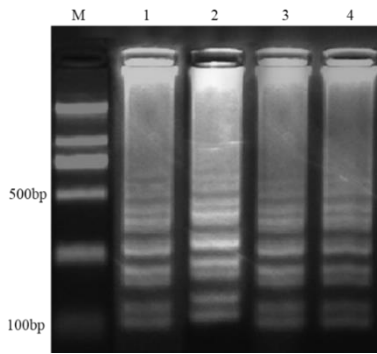
图1 LAMP引物筛选结果

4.1.1.5.1.3 LAMP反应条件优化

通过查阅大量的文献，确定LAMP反应的初始扩增体系如下：反应总体积25 μ l，其中含有2.5 μ l的10 $\times$ ThermoPol Reaction Buffer、外引物F3（10mmol/L）和B3（10mmol/L）各0.5 μ l、内引物FIP（40mmol/L）和BIP（40mmol/L）各1 μ l，dNTPs（10mmol/L）1 μ l，Mg²⁺（0.15mol/L）0.5 μ l，Bst DNA聚合酶1 μ l，DNA模板1 μ l，ddH₂O补齐至25 μ l。将反应液置于65 $^{\circ}$ C保温90min，80 $^{\circ}$ C保温2min灭活Bst DNA聚合酶。

4.1.1.5.1.3.1 dNTPs浓度的优化

设置dNTPs的浓度梯度依次为0.4、0.8、1.2、1.6mmol/L，其他反应条件一致，研究dNTPs的浓度对LAMP扩增的影响，确定最佳的dNTPs浓度，最终确定最佳dNTPs浓度为0.8mmol/L，结果见图2。

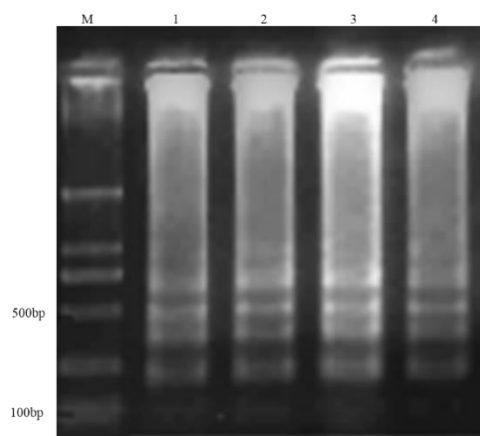


M: D2000 DNA标准分子量；1: dNTPs浓度为0.4mmol/L；2: dNTPs浓度为0.8mmol/L；3: dNTPs浓度为1.2mmol/L；4: dNTPs浓度为1.6mmol/L；

图2 dNTPs浓度的优化

4.1.1.5.1.3.2 Mg^{2+} 浓度的优化

在保证其他反应条件不变的情况下，设置 Mg^{2+} 浓度依次为2、4、6、8mmol/L，进行凝胶电泳法分析比较，研究 Mg^{2+} 的浓度对LAMP扩增的影响，确定最佳的 Mg^{2+} 浓度，最终确定最佳 Mg^{2+} 浓度为6mmol/L，结果见图3。

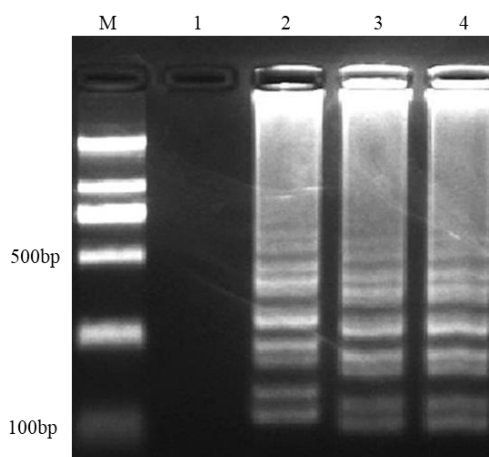


M: D2000 DNA标准分子量；1: Mg^{2+} 浓度为2mmol/L；2: Mg^{2+} 浓度为4mmol/L；3: Mg^{2+} 浓度为6mmol/L；4: Mg^{2+} 浓度为8mmol/L；

图3 Mg^{2+} 浓度的优化

4.1.1.5.1.3.2 扩增时间的确定

设置扩增时间梯度为15、30、45、60min，其他反应条件一致，进行琼脂糖凝胶电泳法分析比较，确定最适的扩增时间，最终确定最适的扩增时间为30min，结果见图4。

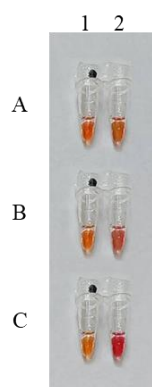


M: D2000 DNA标准分子量；1: 扩增时间15min；2: 扩增时间30min；3: 扩增时间45min；4: 扩增时间60min；

图4 扩增时间的优化

4.1.1.5.1.3.3 指示剂浓度的优化

设置指示剂酚红浓度梯度依次为0.05%、0.1%、0.2%，其他反应条件一致，观察扩增产物颜色，最终确定指示剂浓度为0.2%，结果见图5。



注：1为阳性样品DNA；2为阴性样品DNA；
A：指示剂浓度为0.05%；B：指示剂浓度为0.1%；C：指示剂浓度为0.2%
图5 指示剂浓度的优化

4.1.1.5.2 G2-EPSPS转基因LAMP方法的建立

4.1.1.5.2.1 LAMP引物序列设计

选取G2-EPSPS基因序列为靶基因，使用LAMP引物在线设计软件LAMP primer designing software（LAMP primer designing software:PrimerExplorer）设计出三组引物，引物交由上海生工工程有限责任公司合成。具体引物序列见表3。

表3 G2-EPSPS LAMP引物序列

引物名称	引物序列5'-3'
1-F3	GCGCCGAACAGGACAAT
1-B3	CGGCGCCTGTAAGTTTTC
1-FIP	CGGTTTCGATCTCGCTGACCCGTTTGAATTGCCGGCGGATC
1-BIP	CGCGGGCGTTGCATGACTAGCATAGCTCGCTCCTACA
2-F3	GCACGCTTTATCGTTGACGT
2-B3	CGGTCACGGTTTTCTGCG
2-FIP	AACACGCCATGCTTGTGCGAGTGTGCGAGCAAGCTCTGC
2-BIP	GCCTGATGATTCGGGTCCGCCTCAAGGTACAAGGCTCCTG
3-F3	GTGGGCCCGCAGAAGTG
3-B3	CGCAGGTTCCGCCAGTTCA
3-FIP	ATCACGGCCTGGGCCTTGGCTGACCGGTGGGCGTAT
3-BIP	AAGCCACGGTGGTAGGCTCGACCGGGTGTGTTGAAC

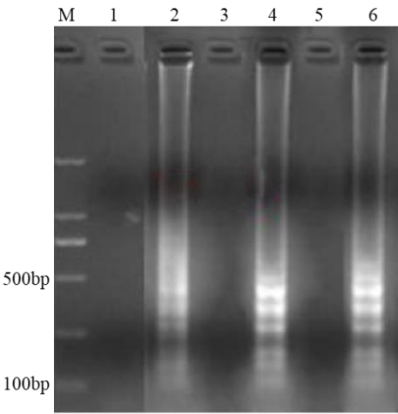
4.1.1.5.2.2 LAMP引物筛选

合成的引物经过离心后，按照说明书加入灭菌去离子水溶解，配制成100μmol/L母液，分别取FIP和BIP母液各8μl，取F3和B3母液各1μl，用灭菌去离子水补足20μl，为引物混合溶液。使用U-LAMP通用型DNA快速扩增试剂盒，以标准物质转基因大豆ZH10-6的DNA

为模板，采用三组LAMP引物分别进行扩增。将扩增产物置于凝胶电泳检测，根据凝胶条带亮度判断最适LAMP引物，最终选择引物组合2，具体信息见表4，图6。

表4 最佳LAMP引物序列

引物名称	引物序列5'-3'
2-F3	GCACGCTTTATCGTTGACGT
2-B3	CGGTCACGGTTTTCTGCG
2-FIP	AACACGCCATGCTTGTCGAGTGTCGCGAGCAAGCTCTGC
2-BIP	GCCTGATGATTCCGGGTCCGCCTCAAGGTACAAGGCTCCTG



M：D2000 DNA标准分子量；1：第一组引物对照；2：第一组引物扩增条带；3：第二组引物对照；4：第二组引物扩增条带；5：第三组引物对照；6：第三组引物扩增条带；

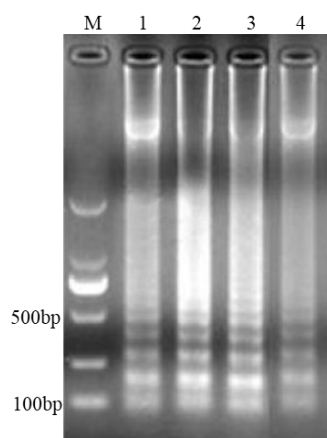
图6 LAMP引物筛选结果

4.1.1.5.2.3 反应条件优化

通过查阅大量的文献，确定LAMP反应的初始扩增体系如下：反应总体系25 μl，其中含有2.5μl的10×ThermoPol Reaction Buffer、外引物F3（10mmol/L）和B3（10mmol/L）各0.5μl、内引物FIP（40mmol/L）和BIP（40mmol/L）各1μl，dNTPs（10mmol/L）1μl，Mg²⁺（0.15mol/L）0.5μl，Bst DNA聚合酶1μl，DNA模板1μl，ddH₂O补齐至25μl。将反应液置于65℃保温90min，80℃保温2min灭活Bst DNA聚合酶。

4.1.1.5.2.3.1 dNTPs浓度的优化

设置dNTPs的浓度梯度依次为0.4、0.8、1.2、1.6mmol/L，其他反应条件一致，研究dNTPs的浓度对LAMP扩增的影响，确定最佳的dNTPs浓度，最终确定最佳dNTPs浓度为0.8mmol/L，结果见图7。

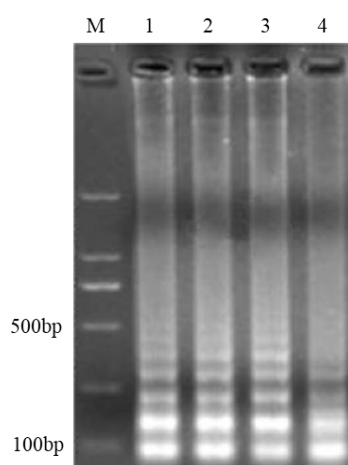


M: D2000 DNA标准分子量；1: dNTPs浓度为0.4mmol/L；2: dNTPs浓度为0.8mmol/L；3: dNTPs浓度为1.2mmol/L；4: dNTPs浓度为1.6mmol/L；

图7 dNTPs浓度的优化

4.1.1.5.2.3.2 Mg^{2+} 浓度的优化

在保证其他反应条件不变的情况下，设置 Mg^{2+} 浓度依次为2、4、6、8mmol/L，进行凝胶电泳法分析比较，研究 Mg^{2+} 的浓度对LAMP扩增的影响，确定最佳的 Mg^{2+} 浓度，最终确定最佳 Mg^{2+} 浓度为6mmol/L，结果见图8。

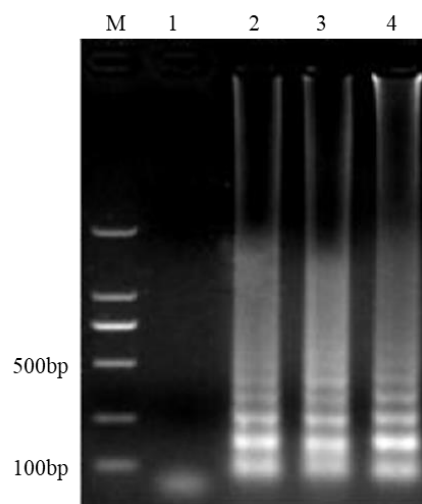


M: D2000 DNA标准分子量；1: Mg^{2+} 浓度为2mmol/L；2: Mg^{2+} 浓度为4mmol/L；3: Mg^{2+} 浓度为6mmol/L；4: Mg^{2+} 浓度为8mmol/L；

图8 Mg^{2+} 浓度的优化

4.1.1.5.2.3.3 扩增时间的优化

设置扩增时间梯度为15、30、45、60min，其他反应条件一致，进行琼脂糖凝胶电泳法分析比较，确定最适的扩增时间，最终确定最适的扩增时间为30min，结果见图9。



M: D2000 DNA标准分子量；1: 扩增时间15min；2: 扩增时间30min；3: 扩增时间45min；4: 扩增时间60min；

图9 扩增时间的优化

4.1.1.5.2.3.4 指示剂浓度的优化

设置指示剂酚红浓度梯度依次为0.05%、0.1%、0.2%，其他反应条件一致，观察扩增产物颜色，最终确定指示剂浓度为0.2%，结果见图10。



注：1为阳性样品DNA；2为阴性样品DNA；

A: 指示剂浓度为0.05%；B: 指示剂浓度为0.1%；C: 指示剂浓度为0.2%

图10 指示剂浓度的优化

4.1.1.6 最终建立的LAMP反应条件

CP4-EPSPS及G2-EPSPS的LAMP检测方法反应体系体系相同：

组分	工作液浓度	加样量/ μL	反应体系终浓度
10 $\times$ ThermoPol Reaction Buffer	10	2.5	1
外侧上游引物 (F3)	10 $\mu\text{mol/L}$	0.5	0.2 $\mu\text{mol/L}$
外侧下游引物 (B3)	10 $\mu\text{mol/L}$	0.5	0.2 $\mu\text{mol/L}$
内侧上游引物 (FIP)	40 $\mu\text{mol/L}$	1	1.6 $\mu\text{mol/L}$
内侧下游引物 (BIP)	40 $\mu\text{mol/L}$	1	1.6 $\mu\text{mol/L}$
dNTPs	10 mmol/L	2	0.8 mmol/L
甜菜碱	5mol/L	5	1.0 mmol/L

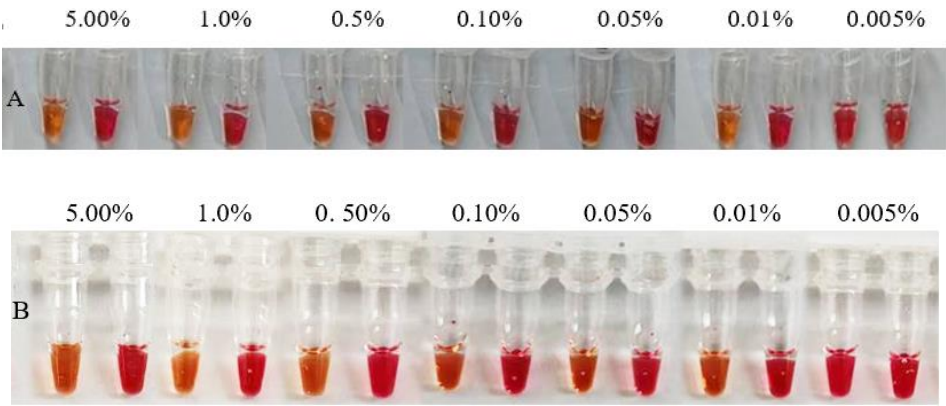
MgSO ₄	150mmol/L	1	6mmol/L
Bst DNA聚合酶	8U/μL	1	0.32U/μL
酚红	10%	0.5	0.2%
水	-	补足至25	-

LAMP反应参数：65℃ ± 0.5℃ 恒温扩增30min。

4.1.2 实验室内验证（技术指标要求）和实验室间验证

4.1.2.1 灵敏度验证

取转基因大豆标准物质（DBN9004）、转基因大豆标准物质（中黄6106）和非转基因大豆标准物质液氮研磨呈细粉干燥至恒重。用1/10000分析天平分别称取转基因大豆和非转基因大豆按一定比例混合使转基因大豆分别占总重的5.00%、1.00%、0.50%、0.10%、0.05%、0.01%、0.005%、充分混匀提取DNA。以上述DNA为模板进行LAMP扩增，同时以非转基因大豆DNA作为对照，结果显示最低检测限度为0.01%，见图11。



A：CP4-EPSPS灵敏度验证结果；B：G2-EPSPS灵敏度验证结果
图11 灵敏度验证

4.1.2.2 特异性验证

提取转化体瑞丰125、ND207、Bt11、中黄6106 DNA、DBN9004。以上述DNA为模板进行LAMP扩增，结果显示转化体瑞丰125、ND207、Bt11、中黄6106 DNA未检出CP4-EPSPS基因，瑞丰125、ND207、Bt11、中黄6106 DNA、DBN9004未检出G2-EPSPS基因，见表5。

表5 特异性		
转化体	CP4-EPSPS检测结果	G2-EPSPS检测结果
瑞丰125	-	-
ND207	-	-
Bt11	-	-
中黄6106	-	+
DBN9004	+	-

注：“-”表示检测结果为阴性，“+”表示检测结果为阳性

4.1.2.3 实验室间验证

为验证本方法的有效性和适用性，本项目单位邀请了北大荒粮食集团有限公司、黑龙江象屿农业物产有限公司2家不同的检测机构对本标准进行验证，验证内容为本方法的灵敏度、特异性、方法比对盲样测定。

4.1.2.3.1 实验室间灵敏度验证

验证单位的验证结果显示：CP4-EPSPS基因最低检测限度为0.01%，各验证单位最低检测限见表6。

表6 实验室间灵敏度

验证单位	最低检测限度
北大荒粮食集团有限公司中心	0.01%
黑龙江象屿农业物产有限公司	0.01%

4.1.2.3.2 实验室间特异性验证

验证单位的验证结果显示：转化体瑞丰125、ND207、Bt11、中黄6106均未检出CP4-EPSPS基因，瑞丰125、ND207、Bt11、中黄6106 DNA、DBN9004未检出G2-EPSPS基因。

表7 实验室间特异性验证

验证单位	检测基因	转化体				
		瑞丰125	ND207	Bt11	中黄6106	DBN9004
北大荒粮食集团有限公司中心	EP4-EPSPS	-	-	-	-	+
	G2-EPSPS	-	-	-	+	-
黑龙江象屿农业物产有限公司	EP4-EPSPS	-	-	-	-	+
	G2-EPSPS	-	--	--	+	-

注：“-”表示检测结果为阴性，“+”表示检测结果为阳性

4.1.2.3.3 样品检测验证

项目组提供代表性盲样共5份，供各验证单位进行检测，检测结果显示各验证单位的验证结果具有一致性，表明本方法准确可靠，结果见表6。

表8 样品检测

验证单位	检测基因	盲样1	盲样2	盲样3	盲样4	盲样5
北大荒粮食集团有限公司中心	EP4-EPSPS	+	-	-	+	-
	G2-EPSPS	-	+	+	-	-
黑龙江象屿农业物产有限公司	EP4-EPSPS	+	-	-	+	-
	G2-EPSPS	-	+	+	-	-

注：“-”表示检测结果为阴性，“+”表示检测结果为阳性