

梁晋刚,徐俊锋,焦悦,等.转基因作物快速检测技术进展与展望[J].江苏农业科学,2019,47(21):71-74.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.21.016

# 转基因作物快速检测技术进展与展望

梁晋刚<sup>1</sup>,徐俊锋<sup>2</sup>,焦悦<sup>1</sup>,刘鹏程<sup>1</sup>,张秀杰<sup>1</sup>

(1.农业农村部科技发展中心,北京 100176; 2.浙江省农业科学院农产品质量标准研究所,浙江杭州 310021)

**摘要:**转基因检测作为转基因生物安全评价、监管和标识管理的重要支撑,可有效防范未经安全评价和品种审定的转基因作物非法扩散,保障我国农业转基因生物产业健康发展。随着现代生物技术的发展,转基因检测技术也在朝着快速、简便、高通量、自动化等方向发展,转基因快速检测技术越来越得到广泛运用并在监管过程中发挥了重要作用。本文简要介绍了转基因作物快速检测技术的发展现状,并讨论了几种快速检测技术存在的问题,最后总结归纳了转基因作物检测存在的新问题,为我国转基因作物的安全监管提供参考。

**关键词:**转基因作物;快速检测技术;监管;研究进展;展望

**中图分类号:** Q785 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)21-0071-04

许多转基因生物被研发公司给予不同的商品名称,以便在市场上进行商业化运作。然而其遗传性状和商品名不一定完全相同,即具有不同商品名称的转基因生物可能具有相同的遗传性状,以相同商品名称出售的转基因生物可能包含不同的遗传性状。因此,明确产品含有何种转基因成分的唯一方法就是通过转基因生物检测。

自 1996 年转基因作物商业化以来,转基因技术研究范围不断扩大,全球转基因作物种植面积持续增加。2017 年,全球转基因作物种植面积达到 1.898 亿  $\text{hm}^2$ ,转基因作物在带来巨大经济效益和生态效益的同时,其潜在风险也一直饱受争议,因此建立快速且准确地转基因检测体系十分重要<sup>[1]</sup>。

国际上批准商业化种植的转基因作物经过了最为严格的安全评价与检测,也建立了有史以来最为严格的监管体系<sup>[2]</sup>。我国同样十分重视农业转基因生物安全管理工作,每年都会组织开展农业转基因生物安全监管工作,一些相关的

检测手段也正在不断地完善中。从 2002 年起,农业部发布了一系列农业转基因生物安全标准,截至 2017 年 12 月,现行有效的标准共 176 项,其中,产品成分检测类的标准有 100 项<sup>[3]</sup>。作为法规实施的重要技术保障,农业转基因标准在安全评价、安全监管、检测监测和产品标识等方面发挥了重要作用。转基因作物管理的完善,需要快速而简便的检测方法。

一方面转基因作物种植面积逐年上升,品系(事件)越来越多,元件构成越来越复杂,另一方面转基因作物对人和环境的安全性问题也备受争议,同时转基因作物非法种植、流通及低水平混杂现象时有发生。因此许多国家都制定了相应的定性定量检测和标识制度。我国严格按照法律法规开展转基因安全评价和安全管理,只有通过安全评价后,方可获得生产应用安全证书。然而目前监管实践中却依然缺乏对转基因成分进行高通量、快速高效、操作简单、低成本的检测技术与配套产品。

## 1 转基因作物检测技术研究进展

### 1.1 商业化转基因作物的主要外源元件

目前国内外转基因生物研发迅猛,各种新型的转化体系层出不穷,给转基因检测工作带来极大挑战。现国内外商业化转基因作物主要有玉米、大豆、棉花、水稻、油菜,这 5 类主要转基因作物的外源插入基因序列按启动子、终止子、目的基因、标记基因进行分类统计分析,主要检测元件包括:转基因

收稿日期:2018-07-24

基金项目:转基因生物新品种培育科技重大专项(编号:2016ZX08011-003)。

作者简介:梁晋刚(1987—),男,山西阳泉人,博士,农艺师,主要从事转基因生物安全评价与检测研究。E-mail:382408162@qq.com。  
通信作者:张秀杰,副研究员,主要从事转基因生物安全评价与检测研究。E-mail:zhxj7410@sina.com。

[42]王浩.胆碱和裂殖壶菌油对鸡蛋中二十二碳六烯酸富集的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2018.

[43]马海滨.日粮中添加不同油脂对鸡蛋不饱和脂肪酸含量和蛋白质的影响[D].北京:中国农业科学院,2009.

[44]Nash D M, Hamilton R M G, Hulan H W. The effect of dietary herring meal on the omega-3 fatty acid content of plasma and egg yolk lipids of laying hens[J]. Canadian Journal of Animal Science, 1995, 75(2):247-253.

[45]齐广海.生育酚在脂肪酸调控鸡体内的代谢及其对产品的作用[D].北京:中国农业科学院,1995.

[46]高占峰,汪鲲,齐广海,等.日粮 n-3 多不饱和脂肪酸对蛋黄

脂质稳定性的影响[J].中国饲料,2000(11):8-11.

[47]张丽娜.百草素对蛋鸡生产性能及其鸡蛋与组织脂质的影响[D].扬州:扬州大学,2010.

[48]李晓玲.大豆异黄酮对蛋鸡生产性能和脂类代谢的影响[D].沈阳:沈阳农业大学,2016.

[49]王秋实.日粮中添加绿茶粉对鸡蛋品质和蛋鸡脂肪代谢的影响[D].合肥:安徽农业大学,2016.

[50]龙彬.金银花、蓝莓、葡萄籽提取物对蛋鸡生产性能、蛋品质、脂质代谢及免疫力的影响[D].重庆:西南大学,2018.

[51]杨研君.菊苣多糖对蛋鸡生产性能、蛋品质及脂类代谢的影响[D].长春:吉林农业大学,2018.

玉米检测 *CaMV 35S* 启动子、*FMV 35S* 启动子、*bar*、*pat*、*Cp4 - epsps*、*m - epsps*、*Cry1Ab*、*nptII*、*CaMV 35S* 终止子、*NOS* 终止子等;转基因大豆检测 *CaMV 35S* 启动子、*FMV 35S* 启动子、*pat*、*Cry1Ac*、*Cp4 - epsps*、*NOS* 终止子、*E9* 终止子等;转基因棉花检测 *CaMV 35S* 启动子、*FMV 35S* 启动子、*pat*、*Cry1Ab/Ac*、*Cp4 - epsps*、*API*、*CpTI*、*nptII*、*NOS* 终止子、*E9* 终止子等;转基因水稻检测 *CaMV 35S* 启动子、*bar*、*Cry1Ab/Ac*、*nptII*、*hpt*、*NOS* 终止子等;转基因油菜检测 *CaMV35S* 启动子、*FMV35S* 启动子、*NOS* 启动子、*bar*、*pat*、*Cp4 - epsps*、*NOS* 终止子、*E9* 终止子等。

各类检测元件可在转基因检测相关数据库中查询,数据库主要有 GMDD (GMO Detection Method Database)、EU Database of Reference Methods for GMO Analysis、GMO Compass。

## 1.2 转基因作物的检测方法概述

根据检测转基因作物中的目标物,转基因作物的成分检测主要从 3 个方面入手:(1)针对基因核酸的检测,在检测的特异性上,又分为筛选检测、基因特异性检测、构建特异性检测、转化体特异性检测等类型,利用的方法主要为定性 PCR 和实时荧光定量 PCR 2 种;(2)针对蛋白质的检测,主要包括蛋白质印迹法、酶联免疫吸附法、免疫层析法;(3)基于代谢物的检测,主要包括高效液相色谱法和双向电泳法<sup>[4-8]</sup>。

目前,检测中最常用的仍是定性 PCR 和实时荧光 PCR 方法<sup>[7]</sup>。与此同时,虽然许多国家已经实施了严格的转基因标识管理规定,但经常有未经授权和不受控制的转基因作物被释放的报道,因此迫切需要一种即时、敏感、简单、低成本、易于操作的方法来进行现场检测转基因作物<sup>[9]</sup>。

转基因快速检测技术在政府监管、企业内控等方面发挥的作用越来越重要。农业农村部曾在印发的农业转基因生物安全监管工作方案中建议,充分利用试纸条等快速检测方法,降低成本,扩大监测范围<sup>[10]</sup>。

## 2 转基因作物的快速检测技术研究进展

转基因作物常规检测法结果比较可靠,但样品前处理繁琐、检测成本高、时间长,需要专门的技术人员,无法满足快速、低成本等实际的需要,从而催生出许多的快速检测技术,如各种试纸条、生物芯片、传感器等,这些技术的加入为现场检测提供了更广阔的发展空间。其中,目前实际应用比较多的是以 PCR 为基础的检测方法和以 DNA 杂交为基础的生物传感器<sup>[11]</sup>。

### 2.1 以核酸恒温扩增为基础的快速检测

核酸恒温扩增技术与常规 PCR 相比,可在恒定温度下使 DNA 或者 RNA 目标片段延伸,对仪器要求较低,通常简易的水浴锅或恒温槽等就可以满足要求,摆脱了传统扩增方法对精密温控设备的需求,实现快速检测,大致可分为 4 类:(1)链置换 DNA 聚合酶介导的反应,如环介导恒温扩增(loop mediated isothermal amplification, LAMP)、交叉引物恒温扩增(cross - priming amplification, CPA)和滚环扩增(rolling circle amplification, RCA);(2)酶促解旋/引物退火的反应,如重组酶介导扩增(recombinase polymerase amplification, RPA);(3)基于 RNA 转录的扩增反应,如转录介导的扩增(transcription - mediated amplification, TMA)和基于核酸序列的扩增(nucleic

acid sequence - based amplification, NASBA);(4)基于单链剪切辅助的反应,如链置换扩增(strand displacement amplification, SDA)和切口酶介导的扩增(nicking enzyme amplification reaction, NEAR)<sup>[12]</sup>。其中,以 LAMP、CPA、RPA 等简便快速的恒温扩增技术在转基因检测中已受到广泛关注。

**2.1.1 基于 LAMP 技术的快速检测方法** LAMP 技术依赖于能识别靶标序列上 6 个特异区域的 4 条引物(包括正向外引物、正向内引物、反向外引物和反向内引物)和 1 个具有链置换特性的 DNA 聚合酶,在等温条件下特异、高效、快速地扩增靶基因,灵敏度高、特异性高。另外,通过设计 2 条环引物(正向环引物和反向环引物)可加快 LAMP 反应速度,使整个反应时间缩短<sup>[13-15]</sup>。与 CPA 不同的是, LAMP 扩增具有更高的扩增效率,更大的产物生成量,常用的是浊度法、钙黄绿素法和 SYBR Green I 荧光法<sup>[16]</sup>。LAMP 扩增以其高特异性和高扩增效率的特点在食品、环境、农业、临床等多个方面都有广泛的应用。Shao 等发展了基于毛细管阵列的恒温核酸扩增技术(capillary array - based loop - mediated isothermal amplification for multiplex visual detection of nucleic acids, CALM),该平台可实现并行的多重 LAMP 反应,研究人员选取了 7 种常用且重要的转基因元件(*P - CaMV35S*、*bar*、*cp4 - epsps*、*P - FMV 35S*、*pat*、*T - nos*、*nptII*),同时加入 5 个物种内源基因(*ADHI*、*Sad1*、*SPS*、*HMG I/Y*、*Lectin*)作为阳性对照对平台进行性能测试,表明 CALM 技术平台具有极高的检测准确性,也表明其在实际检测领域有着很好的运用前景<sup>[17]</sup>。Wang 等研究引入了一种新型的金属指示剂 - 酸性络蓝 K (acid chrome blue K, ACBK),建立了闭管 LAMP 扩增和检测结果可视化检测技术,并以 *T - nos* 和 *P - CaMV35S* 为靶序列,建立了 TNOS - ACBK - LAMP 和 P35S - ACBK - LAMP 检测体系,检测结果既可以肉眼直接判断也可以借助紫外可见光谱分析<sup>[18-19]</sup>。为了使诊断技术更加简便易行,使之适用于在田间操作, Wang 等建立了转基因作物叶片 DNA 快速提取技术,并使用普通保温杯为 LAMP 反应提供所需的恒温条件,通过肉眼判别是否产生焦磷酸镁白色沉淀来检测转基因作物,最终研发出一套不依赖电源不依赖实验室条件、可以在 30 min 内完成的田间 LAMP 检测技术体系<sup>[20]</sup>。

**2.1.2 基于 CPA 技术的快速检测方法** CPA 主要利用具有链置换功能的 DNA 聚合酶结合特殊的引物设计在体外恒温条件下(63 ℃)特异、高效、快速地复制模板完成扩增,并通过侧横流试纸条进行检测<sup>[21]</sup>。快速、简单、不需要昂贵仪器和分子实验室的特点使 CPA 逐渐受到关注, Huang 等利用 CPA 结合侧横流试纸条用来对转基因产品进行现场筛选,通过检测 *CaMV35S* 基因可检测 0.05% 的转基因玉米 MON810<sup>[22]</sup>。

**2.1.3 基于 RPA 技术的快速检测方法** 重组聚合酶扩增(RPA)技术被称为是可以替代 PCR 的核酸检测技术。RPA 扩增的速度非常快,灵敏度高,对硬件设备要求低,而且不需要复杂的样本处理。这样的技术特别适合于体外诊断、兽医、食品安全、生物防御、农业等领域。RPA 能在室温条件(37 ~ 42 ℃)下快速检测样本里的痕量 DNA。Xu 等用这一技术在 15 ~ 25 min 内检出了只含 100 拷贝目标分子的样本。此外,他们还建立了实时 RPA 分析体系,成功检测了 4 种主要的转

基因作物(玉米、水稻、棉花和大豆)<sup>[23]</sup>。Wang 等研发了一种靠人体加热介导的 RPA 方法,试验结果可通过肉眼直接观察,结果表明该方法可在不同的环境温度下准确检测耐除草剂转基因大豆 GTS 40-3-2<sup>[9]</sup>。

## 2.2 以 DNA 杂交为基础的快速检测

贵金属纳米粒子(金、银、铜等)具有强烈的光-物质相互作用特性。纳米结构材料与表面价电子集体振荡频率匹配的光子相互作用时会发生局域表面等离子体共振(localized surface plasmon resonance, LSPR)现象。该方法具有样品处理方法简化、高通量、特异性强等特征,可以免除基因检测中复杂的 PCR 扩增环节。Jang 等展示了金纳米粒子 LSPR 效应可用于检测耐除草剂大豆外源基因,经过 30 min 杂交反应后,在 540 nm 条件下可最低检测含 1 nmol/L 目标 DNA 的样品<sup>[24]</sup>。程志强等利用表面等离子共振成像(surface plasmon resonance imaging, SPRI)技术,分析了玉米的 6 种转基因序列和 6 种转基因操作元件,并证明可将 DNA 和 RNA 探针结合的信号放大 40 倍左右<sup>[25]</sup>。

Yun 等研制出自动微流控薄膜芯片(auto-microfluidic thin-film chip, AMTC)来多重检测转基因玉米,将 DNA 探针固定于方形尼龙薄膜上并置于反向斑点杂交仪器的反应室内,该方法检测极限可达到 0.1%,表明膜芯片技术的检出限不低于普通 PCR 和实时荧光定量 PCR<sup>[26]</sup>。

## 2.3 以蛋白质为基础的快速检测

基于抗体识别转基因蛋白的快速检测一直是国内外快速检测领域应用最为广泛的方法,农业部曾明文推荐该方法用于转基因生物安全监管实践<sup>[10]</sup>。Freitas 等研制出阻抗型电化学免疫传感器用于检测转基因玉米种子中表达的 Cry1Ab 蛋白,该方法可检测转基因玉米种子质量分数含量为 0~5% 的样品,整个分析过程约需 4 h,且与 ELISA 分析具有相同的精确度,为在田间简便快速地检测转基因作物的杀虫蛋白提供了广阔的应用前景<sup>[27]</sup>。Gao 等研制了一种基于碳纳米团簇的无标记电化学发光免疫传感用于检测 Cry1Ab 蛋白,该方法可在 65 min 内检出含 3 pg/mL Cry1Ab 蛋白的样品,另外,该方法还分别成功检出了含 0.10% 转基因水稻 BT63 的样品和含 0.02% 转基因玉米 MON810 的样品<sup>[28]</sup>。

磁性纳米粒子(magnetic nanoparticles, MNPs)已运用于提取转基因大豆基因组 DNA,实现了样品的快速高效提取<sup>[29]</sup>。Liang 等又成功将该技术运用于 Cry1Ac 蛋白的检测,该技术具有更高的灵敏度,可检测 0.1 pg/L~1.0 mg/L 含量的 Cry1Ac 蛋白<sup>[30]</sup>。

## 2.4 其他快速检测技术

拉曼光谱(Raman spectroscopy, RS)是一种散射光谱,具有检测过程简单、检测效率高、不会造成环境污染、大大降低检测成本等特点<sup>[31-32]</sup>。林萍等发明了一种转基因水稻种子及其亲本的快速检测方法,采用拉曼光谱装置获取转基因水稻种子及其亲本的拉曼光谱散射特征曲线,采用核主成分分析法获取核主成分,将核主成分作为大间隔最近邻居算法的输入变量,在核空间中实现转基因水稻种子样本的鉴定<sup>[33]</sup>。Kadam 等利用表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术,研发出省去 PCR 扩增,且可高灵敏精确检测出含有 0.1 pg 转基因拟南芥的样品<sup>[11]</sup>。

## 3 转基因检测讨论及展望

### 3.1 快速检测方法存在的问题

使用核酸恒温扩增技术已能在较短的时间内、恒定的温度下对核酸完成扩增,不需要精密的温控设备,具备易于集成的潜力,为便携核酸分析提供了基础,但在实际应用中仍然存在一些不足。大部分恒温扩增检测方法自身存在一定程度的缺陷。试纸条法:尽管核酸试纸条法价格低廉、使用方便、特异性强,但具有需要开盖检测的弊端,使得研究者不得不借助其他手段避免气溶胶的产生。浊度法:尽管浊度法检测核酸扩增非常直观,但很多情况下难以用肉眼分辨结果,容易造成误判。因此,目前尽管快速检测方法层出不穷,考虑到检测结果的稳定性,全世界范围内转基因检测中最常用的仍是定性 PCR 和实时荧光 PCR 方法<sup>[7]</sup>。

### 3.2 快速检测技术在监管中的应用前景

从检测原理考虑,以传统核酸扩增为基础的转基因检测技术面临两大主要的挑战,即特异性检测引物设计及高质量模板 DNA 的获取。目前,随着加工技术水平和加工精度的提高,原料 DNA 在加工过程中破坏更为严重。同时,精细化的加工过程往往容易引入更多物理、化学或生物性的 PCR 抑制因子,造成了模板 DNA 质量的降低,客观上又给转基因检测带来了困难。因此,为提高转基因成分检测的特异性及灵敏度,需大力发展复杂样品(如深加工食品样品、干扰成分复杂样品等)的核酸提取和纯化技术,同时也应发展特异性和灵敏度更高、重复性更好、检测更快速、结果更可靠的新型核酸检测技术,同时需依据相应的技术特点对不同检测技术进行组合使用,形成行之有效的检测技术。可以预见,随着各种商业化转基因产品种类和数量加速推出,必然要求在短时间内同时完成大量样品的各种转基因成分检测,因此,高通量、自动化、微型化、低成本、高灵敏度、高特异性、快速简便、准确高效的转基因检测技术及技术组合将是未来转基因检测技术研究与应用的发展方向。

### 3.3 新型生物技术植物的安全管理

随着转基因技术更加精准,基因编辑技术、定点重组技术的突破有望使基因操作实现安全化、精准化,同时也面临如何对这个新生事物进行监管和检测的新问题。

一方面,随着转基因研究的深入与发展,如以 CRISPR/CAS9 为代表的基因组定点编辑技术,在转基因研发中得以应用与发展,转基因产品呈现出多样化发展的趋势。为维护自己的商业利益,研发单位往往不愿将相应的遗传改造信息,特别是基因序列信息对外公布,造成遗传改造的基因序列信息难以获取。此类基因编辑作物不同于传统转基因作物,基因编辑作物更多的是对目的基因的删除、插入、碱基突变等,这些基因编辑作物在基因水平上可能与传统育种相比无明显差异,这增加了检测的复杂性。如何有效区分基因编辑作物与自然突变作物仍然是检测的一大难点。

另一方面,对于传统转基因作物的检测技术来说,基于蛋白质的检测技术是其重要的组成部分。但是对于 RNAi 转基因作物(比如转基因番木瓜)来说,由于没有外源蛋白的表达,基于蛋白质的转基因检测技术就不再适用。这对 RNAi 转基因作物的现场快速检测提出了更高的要求。因此,开发

新型的可以对 RNAi 转基因成分进行现场检测的快速检测方法是未来 RNAi 转基因作物监管的基础。

为精确地对转基因产品中的转基因成分进行定量,研究人员须研发出更多更好的适合转基因作物检测需求的方法和快速筛查技术。

#### 参考文献:

- [1] 国际农业生物技术应用服务组织. 2016 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 38(4): 1-8.
- [2] 逢金辉, 马彩云, 封勇丽, 等. 转基因作物生物安全: 科学证据[J]. 中国生物工程杂志, 2016, 36(1): 122-138.
- [3] 农业部科技发展中心. 农业转基因生物安全标准(2015 版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [4] Li R, Quan S, Yan X, et al. Molecular characterization of genetically modified crops: challenges and strategies [J]. Biotechnology Advances, 2017, 35(2): 302-309.
- [5] 李飞武, 沈平, 李葱葱, 等. 转基因植物及其产品成分检测 定性 PCR 方法制定指南: 农业部 2259 号公告-4—2015[S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2015.
- [6] 李亮, 沈平, 张秀杰, 等. 转基因植物及其产品成分检测 实时荧光定量 PCR 方法制定指南: 农业部 2259 号公告-5—2015[S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2015.
- [7] 李夏莹, 张秀杰, 宋贵文. 转基因生物检测方法研究进展[J]. 广东农业科学, 2017, 44(2): 32-38.
- [8] 张芳. 基于 DNA 恒温扩增技术的转基因作物快速检测方法研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [9] Wang R, Zhang F, Wang L, et al. Instant, visual, and instrument-free method for on-site screening of GTS 40-3-2 soybean based on body-heat triggered recombinase polymerase amplification[J]. Analytical Chemistry, 2017, 89(8): 4413-4418.
- [10] 农业部 2015 年农业转基因生物安全监管工作方案[Z]. 北京: 中华人民共和国农业部办公厅, 2015.
- [11] Kadam U S, Chavhan R L, Schulz B A. Single molecule Raman spectroscopic assay to detect transgene from GM plants [J]. Analytical Biochemistry, 2017, 532: 60-63.
- [12] Niemz A, Ferguson T M, Boyle D S. Point-of-care nucleic acid testing for infectious diseases[J]. Trends in Biotechnology, 2011, 29(5): 240-250.
- [13] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H A, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(12): e63.
- [14] Parida M, Sannarangaiah S, Dash P K, et al. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases[J]. Reviews in Medical Virology, 2008, 18(6): 407-421.
- [15] Nagamine K, Hase T, Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers[J]. Molecular and Cellular Probes, 2002, 16(3): 223-229.
- [16] Mori Y, Nagamine K, Tomita N, et al. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from Magnesium pyrophosphate formation [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 289(1): 150-154.
- [17] Shao N, Chen J, Hu J, et al. Visual detection of multiple genetically modified organisms in a capillary array[J]. Lab on a Chip, 2017, 17(3): 521-529.
- [18] 汪小福, 付振芳, 李玥莹, 等. 金属络合剂酸性络蓝 K 在 TNOS-LAMP 可视化检测体系中的应用[J]. 农业生物技术学报, 2016, 24(9): 1374-1383.
- [19] Wang X F, Fu Z F, Chen X Y, et al. Use of a novel metal indicator to judge loop-mediated isothermal amplification for detecting the 35S promoter[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(4): 881-889.
- [20] Wang L, Wang R, Yu Y H, et al. A powerless on-the-spot detection protocol for transgenic crops within 30 min, from leaf sampling up to results[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408(2): 657-662.
- [21] Xu G L, Hu L, Zhong H Y, et al. Cross priming amplification: mechanism and optimization for isothermal DNA amplification[J]. Scientific Reports, 2012(2): 246.
- [22] Huang X, Zhai C C, You Q M, et al. Potential of cross-priming amplification and DNA-based lateral-flow strip biosensor for rapid on-site GMO screening [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(17): 4243-4249.
- [23] Xu C, Li L, Jin W J, et al. Recombinase polymerase amplification (RPA) of CaMV-35S promoter and nos terminator for rapid detection of genetically modified crops[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(10): 18197-18205.
- [24] Jang H, Kwak C H, Kim G, et al. Identification of genetically modified DNA found in roundup ready soybean using gold nanoparticles[J]. Microchimica Acta, 2016, 183(9): 2649-2654.
- [25] 程志强, 宋炉胜, 韩琪, 等. 基于表面等离子共振成像的转基因样本高灵敏检测方法的研究[C]//中国化学会第 28 届学术年会论文集. 成都: 中国化学会, 2012.
- [26] Yun Z Y, Peng L P, Huo S N, et al. Auto-microfluidic thin-film chip for genetically modified maize detection[J]. Food Control, 2017, 80: 360-365.
- [27] Freitas M, Correr W, Cancino-Bernardi J A, et al. Impedimetric immunosensors for the detection of CryIAb protein from genetically modified maize seeds[J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2016, 237: 702-709.
- [28] Gao H F, Wen L K, Wu Y H, et al. An ultrasensitive label-free electrochemiluminescent immunosensor for measuring CryIAb level and genetically modified crops content [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2017, 97: 122-127.
- [29] 赵晓丽, 梁新苗, 槐硕, 等. 磁性纳米粒子的制备及在转基因大豆检测中的应用[J]. 植物检疫, 2017, 31(4): 31-33.
- [30] Liang J Y, Wu Y X, Liu C, et al. Preparation of high stable core/shell magnetic nanoparticles and application in Bacillus thuringiensis CryIAc proteins detection[J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2017, 241: 758-764.
- [31] 赵艳茹, 李晓丽, 徐宁, 等. 拉曼光谱技术在农作物生理信息检测中的研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(5): 1350-1356.
- [32] 李睿, 周金池, 卢存福. 拉曼光谱在生物学领域的应用[J]. 生物技术通报, 2009(12): 62-64.
- [33] 林萍, 陈永明, 胡国文. 一种转基因水稻种子及其亲本的快速检测方法及其专用装置: CN104458703A[P]. 2015-03-25.