

# 豆制品中转基因成分的二重 PCR 检测体系的优化研究

许晓丹, 史永翠, 刘畅, 王存芳\*

(齐鲁工业大学食品与生物工程学院, 山东省微生物工程重点实验室, 济南 250353)

**摘要:** **目的** 由于转基因大豆及其制品日益增多, 其安全性亦受到了越来越多消费者的关注。为满足消费者的知情选择权, 本研究建立一种快速检测外源基因的方法。 **方法** 以转基因豆制品中存在的 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子为检测目标, 优化了二重 PCR 反应体系和条件, 包括引物比例和酶的用量; 运用聚丙烯酰胺凝胶电泳和琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测, 并对聚丙烯酰胺凝胶电泳的银染条件进行探索研究。 **结果** 建立了运用聚丙烯酰胺凝胶电泳更好地区分出外源基因 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子的目的条带的方法。 **结论** 本实验中的二重 PCR 和聚丙烯酰胺凝胶电泳方法适用于对转基因豆制品中这两个外源基因的检测, 为转基因豆制品检测提供了指导。

**关键词:** 转基因检测; 二重 PCR; 聚丙烯酰胺凝胶电泳

## Optimizing of double PCR system for detecting transgenic ingredients in soybean products

XU Xiao-Dan, SHI Yong-Cui, LIU Chang, WANG Cun-Fang\*

(Key Laboratory of Microbial Engineering of Shandong Province, College of Food and Bioengineering, QILU University of Technology, Jinan 250353, China)

**ABSTRACT: Objective** Account of the increasing amount of transgenic soybean and soybean products, the safety problem has received more and more attention from consumers. In order to satisfy consumers' right of informed choice, a rapid method of detecting genetically modified products was established in this study. **Methods** CaMV35S promoter and NOS terminator in soybean products were taken as detection target. The double PCR reaction system and conditions were optimized, including primer ratio and enzyme amount. Agarose gel and polyacrylamide gel electrophoresis were applied to analyze PCR products, and the silver staining conditions for polyacrylamide gel electrophoresis were explored. **Results** The polyacrylamide gel electrophoresis was established and could distinguish CaMV35S promoter and NOS terminator better than agarose gel. **Conclusion** The results showed that double PCR and polyacrylamide gel electrophoresis in this experiment were suitable for the analytic detection of two foreign genes in transgenic soybean products, and it could be a guidance for detecting transgenic food.

**KEY WORDS:** transgenic detection; double PCR; polyacrylamide gel electrophoresis

基金项目: 山东省科技发展计划项目(2013GNC11306)、山东省自然科学基金资助项目(ZR2010CQ005)

**Fund:** Supported by Science and Technology Development Project of Shandong Province (2013GNC11306) and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2010CQ005)

\*通讯作者: 王存芳, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品生物技术和食品营养学。E-mail: cunfangwang@163.com

\*Corresponding author: WANG Cun-Fang, Ph.D, Associate Professor, Key Laboratory of Microbial Engineering of Shandong Province, College of Food and Bioengineering, QILU University of Technology, No. 3501, Daxue Road, Changqing District, Jinan 250353, China. E-mail: cunfangwang@163.com

转基因技术的日益成熟给人类提供了新的方法途径,优化创造出了各种新型的植物和食物原料。随着对转基因产品研究的深入,转入的目的基因、转基因作物的种类和种植面积不断增加,各种转基因食品已深入到了消费者的生活领域中,但是对其安全性还有待商榷。2011年,转基因大豆依然是最主要的转基因作物,占全球转基因作物总种植面积的47%(7540万公顷)<sup>[1]</sup>。我国一直以来都是大豆进口较多的国家,而进口的大豆中用来加工生产的豆制品的原料几乎全部是转基因大豆。随着2013年3种转基因大豆即抗除草剂大豆 CV127、抗虫大豆 MON87701 和抗虫耐除草剂大豆 MON87701×MON89788 作为加工原料获准入华,在国内此类转基因大豆的种植数量也会随之增加,转基因大豆作为原料的豆制品中占有的份额也会有所提高,对于消费者来说转基因食品的种类和数量也会随之上升,因此对于转基因食品的标识监管工作要求更严格。出售的转基因产品应明确标示,消费者在挑选食品时有权了解该食品是否为转基因产品。目前,对于转基因产品的检测已有很多种,可以基于分子水平的蛋白质和核酸的分析,其中包括 PCR 检测技术、酶联免疫法<sup>[2]</sup>、Western 杂交法<sup>[3]</sup>、LAMP 法<sup>[4]</sup>等多种方法。但是这些方法都较为繁琐,且有特定的使用范围,对大批量的食品检测来说较为复杂。本研究针对转基因大豆的豆制品,如豆腐、豆皮、豆干、豆卷、腐竹等,以期找到一种方便快捷准确的基于分子水平的检测方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

转基因大豆阳性对照为青岛出入境检验检疫局所馈赠;豆瓣酱、豆干、豆腐、油皮、腐竹、豆卷、豆浆、油炸豆腐泡等均为从济南超市购买。丙烯酰胺和 Tris(Amresco)、CTAB、EDTA、酚、氯仿、过硫酸铵均购自天津市博迪化工有限公司、SDS(sigma 公司);引物(上海生物工程有限公司)、Marker(济南硕华生物技术有限公司天根基因分公司)、2×Taq Master Mix(济南硕飞生物公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 豆制品 DNA 的提取

由于所选取的豆制品来源比较广泛,需要进行预处理,对固体豆制品首先用蒸馏水在 4℃下浸泡

1~2 d,除去各种配料,再取适量的豆制品进行均质处理;液体制品需要先进行离心处理,取得到的沉淀进行下步提取。参考 CTAB<sup>[5,6]</sup>方法并适当改进,提取预处理样品中的基因组 DNA,取 5 μL 基因组 DNA 在 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

#### 1.2.2 PCR 扩增

以大豆凝集素基因(Lectin)为内源参照基因,用该基因保守序列的特异性引物对所提取豆制品中的 DNA 进行 PCR 扩增。根据 GenBank 登录的 CaMV35S 基因 V00140.1 和 NOS 基因 KF148031.1 序列,应用 Primer 软件 6.0 设计目的基因引物,各引物及扩增条件见表 1 和表 2。二重 PCR 以阳性对照的 DNA 为模板扩增目的基因,并且分别对二重 PCR<sup>[7]</sup>中的引物浓度和 Taq 酶的用量进行优化。① CaMV35S 基因和 NOS 基因的引物之比为 1:1,即引物 35S-1、35S-2、NOS-1、NOS-2 的终浓度均为 0.2 μmol/L;Taq 酶(5 U/μL)的用量分别选用 1、1.5、2 μL 进行扩增。② 两个基因的引物比为 2:1,即引物 35S-1、35S-2 的终浓度为 0.4 μmol/L, NOS-1、NOS-2 的终浓度为 0.2 μmol/L, Taq 酶用量分别为 1、1.5、2 μL。③ 两个基因的引物比为 1:2,即 35S-1、35S-2 的终浓度为 0.2 μmol/L, NOS-1、NOS-2 的终浓度为 0.4 μmol/L, Taq 酶用量分别为 1、1.5、2 μL。对每批次不同引物浓度、不同 Taq 酶用量的 PCR 反应体系在相同的条件下进行二重 PCR,扩增完毕,取 PCR 产物各 8 μL,经 1%琼脂糖凝胶电泳检测,在紫外成像系统中进行拍照。

#### 1.2.3 二重 PCR 产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳

根据前人研究的聚丙烯酰胺凝胶的银染方法<sup>[8-10]</sup>,本实验对银染步骤稍加改进,得到了一种快速显影的方法。首先配制 8%聚丙烯酰胺凝胶(3.2 mL 30%Acry、6.4 mL 去离子水、2.4 mL 5×TBE、200 μL 10%APS、10 μL TMED),灌胶于垂直电泳槽内,静置 40 min,待胶凝固后取下,取二重 PCR 产物 8 μL 进行点样,然后在 90 V 电压下电泳 60 min,电泳完毕,关闭电泳仪,取下凝胶进行银染。银染的方法步骤如下:①分开胶板,在胶体左下角做个切除标记,然后取下胶体,将凝胶放在装有蒸馏水的培养皿中漂洗 2 次;②冲洗好的凝胶转移至染色液(0.1%硝酸银、15%无水乙醇)中震荡 10 min,然后用蒸馏水漂洗 3 次,每次 15 s;③将凝胶转移至显色液(3%氢氧化钠、0.2%甲醛)中震荡 3 min 开始显色,显影较好时拍下照片。

表 1 引物序列及扩增产物  
Table 1 Primers and products

基因名称	引物名称	引物序列	PCR 产物大小
大豆 Lectin	Lectin-1	5'-GCCCTCTACTCCACCCCAATCC-3'	118 bp
	Lectin-2	5'-GCCCATCTGCAAGCCTTTTGTG-3'	
CaMV35S 启动子	35S-1	5'-GCTCCTACA AATGCCATCA-3'	195 bp
	35S-2	5'-GATAGTGGGATTGTGCGTCA-3'	
NOS 终止子	NOS-1	5'-ATCGTTCAA ACATTGGCA-3'	165 bp
	NOS-2	5'-ATTGCGGGACTCTAATCATA-3'	

表 2 PCR 的反应条件  
Table 2 PCR reaction conditions

基因名称	PCR 反应体系	PCR 反应条件
大豆 Lectin	总体积 25 $\mu$ L, 其中引物 Lectin-1、引物 Lectin-2、基因组 DNA 各 1 $\mu$ L, Mix 12.5 $\mu$ L, 双蒸水 9.5 $\mu$ L	94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 4 $^{\circ}$ C 保存
二重 PCR CaMV35S 启动子、 NOS 终止子	①引物 35S-1、35S-2、NOS-1、NOS-2 的终浓度均为 0.2 $\mu$ mol/L; Taq 酶(5 U/ $\mu$ L)的用量分别选用 1、1.5、2 $\mu$ L; 10 $\times$ Buffer 2.5 $\mu$ L; dNTP (250 $\mu$ mol/L) 2 $\mu$ L; Taq (5 U/ $\mu$ L) 1 $\mu$ L, 双蒸水补齐 25 $\mu$ L② 两个基因的引物比为 2:1, 即引物 35S-1、35S-2 的终浓度为 0.4 $\mu$ mol/L, NOS-1、NOS-2 的终浓度为 0.2 $\mu$ mol/L, Taq 酶用量分别为 1、1.5、2 $\mu$ L。10 $\times$ Buffer 2.5 $\mu$ L; dNTP (250 $\mu$ mol/L) 2 $\mu$ L; Taq (5 U/ $\mu$ L) 1 $\mu$ L, 双蒸水补齐 25 $\mu$ L③ 两个基因的引物比为 1:2, 即 35S-1、35S-2 的终浓度为 0.2 $\mu$ mol/L, NOS-1、NOS-2 的终浓度为 0.4 $\mu$ mol/L,10 $\times$ Buffer 2.5 $\mu$ L; dNTP (250 $\mu$ mol/L) 2 $\mu$ L; Taq (5 U/ $\mu$ L) 1 $\mu$ L, 双蒸水补齐 25 $\mu$ L	94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 54 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 4 $^{\circ}$ C 保存

## 2 结果与分析

### 2.1 DNA 的提取

8 种大豆制品基因组的提取都得到了较好的结果(图 1), 供试样品均有明显的 DNA 条带, 拖尾现象比较明显, 泳道尾处有很亮的条带, 说明在提取的过程中有很多断裂的 DNA 小片段。在豆制品加工的过程中, 基因组的完整性也受到了不同程度的破坏, 一般来说, 加工工序越多基因组断裂越严重<sup>[11-13]</sup>。

### 2.2 大豆 Lectin 基因的 PCR 分析

以大豆凝集素基因(Lectin)为内源参照基因, 用该基因保守序列的特异性引物对所提取豆制品中的 DNA 进行 PCR 扩增, 以判断所提取的 DNA 是否为大豆基因组, 并鉴定所提核酸是否适合于 PCR 检测。对 8 种豆制品的 DNA 进行大豆内源基因的扩增(图 2), 泳道 10 为空白对照, 泳道 9 为阳性对照, 选用的 8 种豆制品所提取的 DNA 都得到了很好的扩增, 说明所提取的 DNA 为大豆基因组, 且能够满足 PCR 扩

增的需求, 所提取的基因组中不存在对 PCR 扩增有抑制作用的杂质。

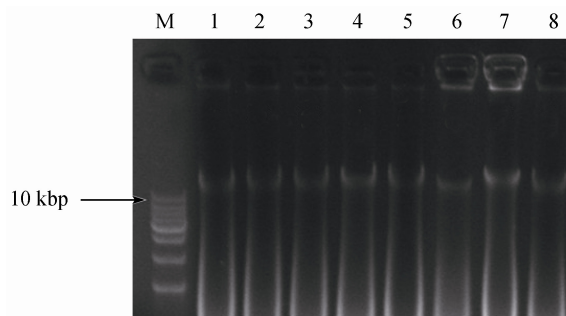


图 1 8 种豆制品中提取的基因组 DNA 的琼脂糖电泳  
Fig. 1 Genome DNA extracted from eight soy products and the correspondent agarose electrophoresis  
M. 1 kb Marker; 1. 豆瓣基因组 DNA; 2. 豆奶粉基因组 DNA; 3. 豆腐基因组 DNA; 4. 卤香豆干基因组 DNA; 5. 豆皮基因组 DNA; 6. 油炸豆腐泡基因组 DNA; 7. 腐竹基因组 DNA; 8. 油皮基因组 DNA  
M. 1 kb Marker; 1. thick broad-bean sauce; 2. soybean milk powder; 3. tofu; 4. dried tofu; 5. skin of beancurd; 6. fried tofu puffs; 7. dried beancurd sticks; 8. outermost layer of skin

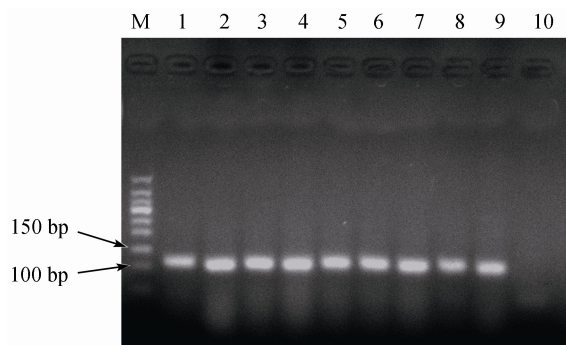


图 2 大豆 Lectin 基因在 8 种豆制品中扩增的琼脂糖电泳

Fig. 2 Lectin gene from 8 soybean products amplified and the correspondent agarose electrophoresis

M. 50 bp DNA Marker; 1. 豆瓣; 2. 豆奶粉; 3. 豆腐; 4. 卤香豆干; 5. 豆皮; 6. 油炸豆腐泡; 7. 腐竹; 8. 油皮; 9. 阳性对照; 10. 空白  
M. 50bp Marker; 1. thick broad-bean sauce; 2. soybean milk powder; 3. tofu; 4. dried tofu; 5. skin of beancurd; 6. fried tofu puffs; 7. dried beancurd sticks; 8. outermost layer of skin; 9. positive control; 10. blank.

### 2.3 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子的 PCR 分析

根据国内已经批准了的商业化转基因资料, 转基因植物中大多数采用花椰菜花叶病毒的 CaMV35S<sup>[14]</sup>作为启动子, 农杆菌 Ti 质粒的 NOS 为终止子<sup>[15]</sup>, 因此对材料进行 35S 启动子和 NOS 终止子的检测可作为是否为转基因材料的判断。二重 PCR 条件的优化表明: 当 35S 引物(35S-1 和 35S-2)和终止子的引物(NOS-1 和 NOS-2)的终浓度之比为 1: 1, 即均为 0.2  $\mu\text{mol/L}$  时, 两外源基因均被有效的扩增, 且得到的条带清晰。在最优的引物比例条件下, 3 种酶量都能扩增出条带。为节约昂贵的 DNA 聚合酶, 二重 PCR 的 Taq 酶用量为 1.0  $\mu\text{L}$ 。

运用二重 PCR 优化的结果对 8 种豆制品进行外源基因的检测(图 3), 泳道 8(即 8 号样品)没有扩增出目的条带, 而其他的样品均得到了目的片段, 即扩增产物中含有 165 bp 的 NOS 基因和 195 bp 的 35S 基因片段。由此说明, 8 号样品(油皮)为不含外源基因 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子, 即为非转基因食品, 其他样品即豆瓣、豆奶粉、豆腐、卤香豆干、豆皮、油炸豆腐泡和腐竹均为含有 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子的转基因豆制品。

由于 CaMV35S 启动子的扩增产物 195 bp 和 NOS 终止子的扩增产物 165 bp 片段相差较小, 琼脂糖凝胶电泳适合分辨相差 100 bp 以上的两种片段; 而聚丙烯酰胺凝胶电泳的分辨率较大, 能够分离鉴

定小于 100 bp 的 DNA 片段和 DNA 序列分析。因此运用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离启动子和终止子的扩增产物, 并且对聚丙烯酰胺凝胶电泳的银染步骤进行了优化, 得到了清晰的目的条带如图 4。图 4 中 3 号泳道上即油皮样品, 没有出现相应的条带, 说明油皮中不含有外源基因 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子, 这与图三琼脂糖电泳图片相一致。

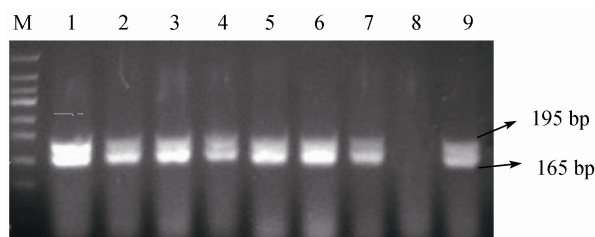


图 3 CaMV35S 和 NOS 基因二重 PCR 的琼脂糖凝胶电泳

Fig. 3 Double PCR of CaMV35S and NOS genes and the correspondent agarose electrophoresis

M. 50 bp DNA Marker; 1. 豆瓣; 2. 豆奶粉; 3. 豆腐; 4. 卤香豆干; 5. 豆皮; 6. 油炸豆腐泡; 7. 腐竹; 8. 油皮; 9. 阳性对照;  
M. 50 bp Marker; 1. thick broad-bean sauce; 2. soybean milk powder; 3. tofu; 4. dried tofu; 5. skin of beancurd; 6. fried tofu puffs; 7. dried beancurd sticks; 8. outermost layer of skin; 9. positive control.

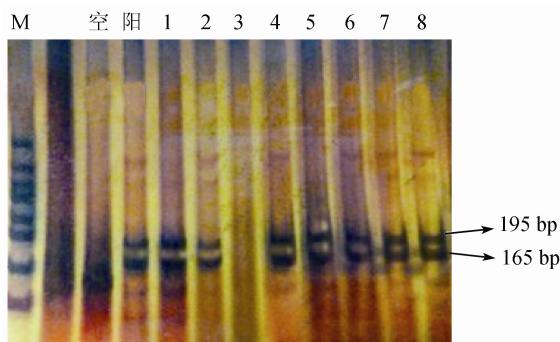


图 4 CaMV35S 和 NOS 基因二重 PCR 的聚丙烯酰胺凝胶电泳

Fig. 4 Double PCR of CaMV35S and NOS genes and the correspondent polyacrylamide gel electrophoresis

M. 50 bp DNA Marker; 1. 豆瓣; 2. 豆奶粉; 3. 油皮; 4. 卤香豆干; 5. 豆皮; 6. 油炸豆腐泡; 7. 腐竹; 8. 豆腐  
M. 50 bp Marker; 1. thick broad-bean sauce; 2. soybean milk powder; 3. outermost layer of skin; 4. dried tofu; 5. skin of beancurd; 6. fried tofu puffs; 7. dried beancurd sticks; 8. tofu; 9. positive control; 10. blank.

## 3 讨论

转基因豆制品的检测至关重要。在整个检测过程中, 首先是基因组的提取, 得到纯净的基因组, 保证

不含有抑制 PCR 扩增的物质, 是能进行下步 PCR 的基础, 这为转基因检测过程中防止出现假阳性提供了保证。在转基因材料的检测中常用的是 PCR 检测, 普通 PCR、定量 PCR、巢式 PCR 等多种分子基础的检测方式, 由于各种目的基因的退火温度不同, 在检测中多用单重的 PCR, 即 1 次反应只能扩增 1 个目的片段, 操作起来比较费时。本实验中利用二重 PCR 对 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子进行同时扩增, 并对二重 PCR 条件进行优化。结果表明, 在 35S 引物与 NOS 引物浓度终浓度为 0.2  $\mu\text{mol/L}$ , 即两基因的引物比为 1:1 时得到的目的条带最清晰。在优化好的引物浓度比例下, Taq 酶在 3 种用量下都能扩增出目的条带, 为节约昂贵的酶, Taq 酶的用量选用 1.0  $\mu\text{L}$ 。

CaMV35S 启动子和 NOS 终止子的二重 PCR 产物 165 bp 和 195 bp 相差较小, 而琼脂糖凝胶电泳分辨率低, 在这里并不适合分离二重 PCR 产物。本次实验选用聚丙烯酰胺凝胶电泳对这两种产物进行分离, 对聚丙烯酰胺凝胶的染色选用了银染的方法, 并在前人研究的基础上对于银染进行了优化: 在染色液中加入硝酸银和用于固定的乙醇, 省去了固定步骤; 在显色液中加入甲醛, 利用甲醛能把银离子还原成金属银变成黑色的原理。银离子能与固定在凝胶上的核酸结合, 且过多会使胶体变成黑棕色, 不利于观察; 而较少则颜色发白, 条带与胶体的对比度不明显; 甲醛的用量与显色时间相关, 较多时显色较快, 但是胶体颜色会随之变得更黄, 反之则显色慢, 且不易观察。本次实验优化的银染方法省去了固定和终止步骤, 这样就缩短了银染时间, 简化了步骤, 银染中硝酸银的用量为 0.15%, 节约了试剂成本, 此类方法可以被检验检疫部门运用到转基因食品的检验中。

#### 参考文献

- [1] James C. Global status of commercialized biotech/GM crops [R]. 2012: 44.
- [2] Chu P, Chan K, Cheung S, *et al.* Review of analytical techniques used in proficiency-testing programs for melamine in animal feed and milk [J]. *TRAC Trend Anal Chem*, 2010, 29(9): 1014–1026.
- [3] Patrick W, Hans S, Angelika P. Determination of the bovine food allergen casein in white wines by quantitative indirect ELISA, SDS-PAGE, Western Blot and immunostaining [J]. *J Agr Food Chem*, 2009, 57(18): 8399–8405.
- [4] Sowmya N, Thakur MS, Manonmani HK. Rapid and simple DNA extraction method for the detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* directly from food samples: comparison of PCR and LAMP methods [J]. *J Appl Microbiol*, 2012, 113(1): 106–113.
- [5] Costa J, Mafra I, Amaral JS, *et al.* Detection of genetically modified soybean DNA in refined vegetable oils [J]. *Eur Food Res Technol*, 2010, 230(6): 915–923.
- [6] 徐伟丽, 杜明, 王文侠, 等. 熟豆浆基因组 DNA 提取方法的优化[C]. 2010 年国际细胞生物学、生物学、生物工程会议论文集. 美国: IEEE 出版社, 2010, 6: 247–251.
- Xu WL, Du M, Wang WX, *et al.* Optimization of extraction methods of genomic DNA from cooked soybean milk [C]. 2010 First International Conference on Cellular, Molecular Biology, Biophysics and Bioengineering (CMBB). America: IEEE, 2010, 247–251.
- [7] 邵碧英, 江树勋, 陈文炳, 等. 大豆及其制品中转基因成分的二重 PCR 检测[J]. *中国食品学报*, 2006, 6(3): 116–119.
- Shao BY, Jiang SX, Chen WB, *et al.* Double PCR detect of transgenic in soybean and soybean products [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2006, 2006, 6(3): 116–119.
- [8] Qiu S, Chen J, Lin S, *et al.* A comparison of silver staining protocols for detecting DNA in polyester-backed polyacrylamide gel [J]. *Braz J Microbiol*, 2012, 43(2): 649–652.
- [9] 李其松, 王金玉, 沈华, 等. DNA 聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染方法的探讨[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2006, 10: 79–80.
- Li QS, Wang JY, Shen Hua, *et al.* Discussion of DNA silver staining methods on polyacrylamide gels electrophoresis [J]. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med*, 2006, 10: 79–80.
- [10] 郭大龙, 张君玉, 石春梅, 等. 一种简便快速高效的 DNA 银染方法[J]. *河南农业科学*, 2010, 7: 74–76.
- Guo DL, Zhang JY, Shi CM, *et al.* A simple, rapid and efficient silver-stained technique of DNA in PAGE [J]. *Henan Acad Agr Sci*, 2010, 7: 74–76.
- [11] 吴洪洪. 转基因 Roundup Ready 大豆外源 CP4-EPSPS 蛋白及内外源基因在食品加工过程中的降解变化规律[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- Wu HH. Monitoring of degradation of cp4-epsps protein, endogenous and exogenous gene in roundup ready soybean during food processing [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [12] 蒋以武. 转基因大豆发酵制品在发酵过程中内、外源基因变化规律的研究[D]. 南京农业大学, 2011.
- Jiang YW. Degradation of endogenous and exogenous genes of fermented transgenic Roundup ready soybean products during fermentation processing [D]. Nanjing Agricultural University, 2011.

- [13] Mafra I, Silva SA, Moreira EJ MO, *et al.* Comparative Study of DNA extraction methods for soybean derived food products [J]. Food Control, 2008, 19(12): 1183–1190.
- [14] 赵学彬, 唐桂英, 单雷. 植物 II 型启动子功能研究的常用方法及其进展[J]. 生命科学, 2013, 25(6).  
Zhao X B, Tang G Y, Shan L. The methods for functional study of plant pol-II promoter and related advances [J]. Chin Bull Life Sci, 2013, 25(6).
- [15] 张洁, 周岩. 根癌农杆菌转化单子叶植物的研究进展与对策 [J]. 生物技术通报, 2013 (005): 7–14.  
Zhang J, Zhou Y. Advance and Some Strategies of Monocotyledons Transformation Mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Biotechnol Bull, 2013 (005): 7–14

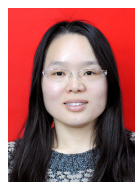
(责任编辑: 张宏梁)

## 作者简介



许晓丹, 硕士, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: xuxiaodan07@126.com



王存芳, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品生物技术和食品营养学。

E-mail: cunfangwang@163.com