

# 基因轉殖棉花、番茄、小麥檢測技術之研究

## Study of transgenic cotton, tomato and wheat detection

張惠如、陳哲仁、周明燕、周佳霖、孫永偉、鍾文全

by

Hui-Ju Chang, Jen-Ren Chen, Ming-Yenn Chou, Chia-Lin Chou, Yung-Wei Sun,  
Wen-Chuan Chung

### 摘要

本研究以歐盟公告之檢測方法以及相關文獻資料，進行基因轉殖棉花不同轉殖品項 PCR 定性檢測試驗，結果顯示在不同轉殖品項 MON531、MON1445、MON15985、MON88913、3006-210-23 與 281-24-236 中，可各自得到預期 72 bp、87 bp、82 bp、94 bp、90 bp 及 111 bp 大小的目標片段。而以具 ERM 認證的標準參考物質，經過基因轉殖作物檢監測團隊中四個不同實驗室進行能力試驗後，建立基因轉殖棉花品項 T304-40、GHB119、3006-210-23 及 281-24-236 之定性檢測方法標準作業流程。另外，基因轉殖番茄與小麥以其他轉殖相同片段的轉殖品項之標準參考物質或合成序列做為檢測方法的正對照樣品，試驗結果顯示在特定的 PCR 反應條件下，可增幅出轉殖序列 CTP2-CP4epsps、T-nos、P-35、CaMV 35S 與 pg 基因 cDNA 的專一性條帶，建立基因轉殖小麥(MON71800)及番茄(FLAVR SAVR™)的定性檢測流程。

關鍵字：基因轉殖作物檢測；Detection of GM Crop；基因轉殖棉花；Transgenic Cotton；基因轉殖番茄；Transgenic Tomato；基因轉殖小麥；Transgenic Wheat

## 前言

根據 2014 年之 ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications) 統計資料，全世界種植基因轉殖作物 (Genetically Modified Crops, 簡稱 GM 作物) 之面積已達 1.81 億公頃，全球基改作物栽培面積，87% 在美洲，亞澳地區 11%，而中東與非、歐洲僅佔 2%。主要栽培之作物依序為大豆(48.6%)、玉米(32.8%)、棉花(13.7%)、油菜(4.9%)。基因轉殖作物及其產品對生態環境與人體健康所可能產生的衝擊，廣泛的受到世界各國關切並重視，並各自訂有基因轉殖作物與其產製品之相關管理法規及建構檢測及監測平台。根據我國植物品種及種苗法與其相關管理法規，有關基因轉殖作物在上市前除須進行生物安全評估、上市後產品除須標示外，亦須接受主管機關監控，以維護國內生態環境與消費者之安全。而最新公告修正之飼料管理法第 11-1 條法規：要求以基因轉殖作物作為原料之飼料，其產品須進行標示並接受主管機關監控。

棉花是錦葵科棉花屬植物的種子纖維，原產於亞熱帶。根據國際棉花諮詢委員會(International Cotton Advisory Committee, ICAC)資料顯示 2012-2015 年全球棉花種植面積基本穩定在 3414~3439 萬公頃之間，其中印度、中國、美國及巴基斯坦分別位列前四，而農糧署 2013 年統計資料顯示臺灣種植棉花的面積約 1.58 公頃，產量約 4126.71 公噸。基因轉殖棉花是 GM 作物中栽培面積第三大的作物，由上述數據換算可知全球棉花種植面積中種植 GM 棉花者約占七成。由於棉花作物的產物除棉絮可作為紡織原料製造衣物等生活用品外，棉花籽和棉花殼為許多酪農作為飼養牛隻的飼料；而脫殼棉仁所製成的棉籽粕蛋白質含量可達 41%~44%，代謝能可達 10.04 兆焦/千克，可作為肉用仔雞飼料。根據 ISAAA 之統計資料，目前基因轉殖棉花共有 56 個轉殖品項(2015 年 10 月 ISAAA 網頁資料)。

番茄(*Solanum lycopersicum*)為茄科番茄屬作物，原產於美洲安地斯山區，是世界上重要的園藝作物，其食用風味良好且營養成分高，廣受大眾喜愛，為全世界產量最高的 30 種作物之一。根據 2012 年 FAO 統計資料顯示全球番茄生產面積達 480.3 萬公頃，產量達 1 億 6,179 萬公噸，其中產量最大的國家是中國，產量為 5,000 萬公噸，占全球產量的 30.9%，遠高於第二名的印度，僅佔全球產量的 10.8%。而農糧署 2013 年的統計資料：臺灣種植番茄的面積約 5633.98 公頃，小果番茄約占總栽培面積的 45%；年產量約 15.1 萬噸，產值約新台幣 75 億元。(資料來源：FAO，台灣經濟研究院生物科技產業研究中心整理)。孟山都公司於 1994 年上市的基因轉殖番茄是世界上第一個在市場上出現的基因轉殖食物，為藉由抑制番茄內分解果膠的酵素，有效延緩番茄過熟軟化，讓番茄自採收到市場到消費者手中都能保持堅韌。儘管號稱有許多優點，然而卻由於消費者接受程度不高而在 1997 年退出市場。根據 ISAAA 之統計資料，目前基因轉殖番茄共有 11 個轉殖品項(2015 年 10 月 ISAAA 網頁資料)。

小麥為禾本科小麥屬植物，原產於溫帶地區，是世界上重要的糧食作物。根據 FAO 統計 2012 年全球小麥生產面積達 2 億 1,731 萬公頃，產量達 6 億 7,149 萬公噸，其中產量最大的國家是中國，產量為 1 億 2,102 萬公噸，占全球產量的 18%，第二名的印度產量為 9,488 萬公噸，佔全球產量的 14.1%，而農糧署 2013 年統計資料：臺

灣種植小麥的面積約 2077.85 公頃，產量約 4126.71 公噸。根據 ISAAA 之統計資料，基因轉殖小麥共有 1 個轉殖品項，即為孟山都公司 MON71800。此抗嘉磷賽殺草劑之基因轉殖小麥曾在美國俄勒岡州(Oregon)進行田間試驗，試驗於 2005 年終止。然而卻在 2013 年美國俄勒岡州農場田間發現小麥基因轉殖植株，引起轉殖基因小麥是否未完全銷毀而流出及小麥食/產品的安全性問題疑慮，使得全球各國緊急建立檢測與邊境管制等方法。

為及早因應基因轉殖作物釋出後對傳統農業產生可能的衝擊，並維護傳統農業之永續發展，目前國內之檢測單位針對基因轉殖玉米、大豆、油菜等作物之定性檢測技術已陸續建立，但對於上述所提到的基因轉殖棉花、小麥與番茄檢測技術，卻尚未建立檢測技術標準作業流程。因此，本計畫將以基因轉殖棉花、番茄及小麥開發其檢測技術，以擴大我國於基因轉殖作物檢測之範圍，進而支援基因轉殖作物及產品輸入及後續管制事宜。

## 材料方法

### 一、 轉基因棉花之標準參考物質與商業品種收集

1. 已購買 3 種具 ERM 認證的轉基因棉花標準參考物質，包括：單一轉殖品項 T304-40(0%、1%、10%)(ERM-BF429)、GHB119(0%、1%、10%)(ERM-BF428) 及 281-24-236x3006-210-23(0%、1%、10%、100%)(ERM-BF422)。
2. 已蒐集 4 種 Monsanto 公司的基因轉殖棉花商業品種，包括單一轉殖品項 MON531、MON1445、MON15985、MON88913 之基因轉殖棉花去活性種子。以及 2 種 Dow AgroSciences 公司單一轉殖品項 3006-210-23 與 281-24-236 之基因轉殖棉花去活性種子。

### 二、 基因轉殖小麥(MON71800)及番茄(FLAVR SAVR™)測試樣品

因為無法取得基因轉殖番茄(FLAVR SAVR™)及基因轉殖小麥(MON71800)之標準參考物質或商業種子，因此參考先前蒐集的文獻及公告資料，在歐盟聯合研究中心(Joint Research Centre, JRC)針對 MON71800 開發檢測技術的策略報告中指出：因 NK603 轉殖基因片段與 MON71800 相同，故應該使用 ERM-BF415 (NK603 maize, IRMM)做為正對照樣品。而在基因轉殖番茄(FLAVR SAVR™)方面，則以合成其轉殖基因片段(X05656, NCBI 序列資料庫)作為轉殖片段 *pg* 正對照。除此之外，也進行 P-35 啟動子及 T-nos 終止子序列的檢測方法測試，做為檢測基因轉殖番茄(FLAVR SAVR™)及小麥(MON71800)的初篩選方法。

### 三、 棉花、番茄及小麥種子之檢測樣品核酸萃取純化：

利用核酸自動萃取機進行棉花、番茄及小麥種子之 DNA 萃取，將待測樣品放入 2ml 離心管中並加入研磨珠及 800ml Lysis Buffer 後，放入均質機中震盪 100 秒(若樣品未完全打碎，重複震盪數次)，樣品均勻攪拌後，於室溫中靜置約 30min 以上。將已靜置 30min 之樣品溶液置於高速離心機中離心 10,000 rpm、5min。

將上清液倒入 Auto Tube 直行管柱(TAN Bead Plant DNA)內，打開核酸自動萃取機(Smart LabAsist-16)，開始進行 DNA 萃取。萃取後的核酸溶液以全波長光譜偵測儀測定 260 nm 及 280nm 之吸光值(O.D.)測定核酸品質，核酸之吸光值應落於  $1.8 \leq OD_{260}/OD_{280} \leq 2.0$  之間較佳。

#### 四、 建立基因轉殖棉花檢測技術

利用歐盟公告之基因轉殖棉花即時聚合酶鏈鎖反應 (Real-time polymerase chain reaction, 簡稱 Real-time PCR) 檢測方法先進行 PCR 定性檢測試驗，以已蒐集到的 Monsanto 及 Dow AgroSciences 公司的基因轉殖棉花商業品種種子為試驗材料，根據電泳圖條帶顯示狀況判定結果，並經過重複確認試驗。(檢測引子對序列如表一)

#### 五、 建立基因轉殖小麥(MON71800)及番茄(FLAVR SAVR™)之檢測技術

根據歐盟聯合研究中心(Joint Research Centre, JRC)的研究報告進行檢測引子序列合成，並以 ERM-BF415(NK603 maize, IRMM)做為正對照樣品，進行 ctp2-cp4、P-35 與 T-nos 序列片段定性檢測方法之試驗。使用一般小麥商業品種之種子進行管家基因(acc)片段定性檢測方法之試驗。(檢測引子對序列如表二)

另外，根據歐盟聯合研究中心(Joint Research Centre, JRC)、研究文獻(Rolf Meyer, 1995)與 GMO Detection method Database (GMDD)網站資料，進行檢測引子序列合成，並合成 pg 基因轉殖片段(X05656, NCBI 序列資料庫)作為正對照樣品，並進行以 Bt176 進行 CaMV 35S 及 nptII 基因片段定性檢測方法之試驗。(檢測引子對序列如表三)

#### 六、 基因轉殖棉花檢測技術之儀器與檢測穩定度試驗與能力試驗

將已建立之基因轉殖棉花(轉殖品項：T304-40、GHB119及 281-24-236x3006-210-23) 之檢測標準作業流程方法並配置檢測樣品，提供給基因轉殖作物檢監測體系之相關實驗室(農試所、鳳試所、台南場等)，逐步進行檢測樣品檢出能力試驗及能力試驗(盲樣試驗)，以確認標準作業流程方法的穩定性及可信性，而後可納入實驗室認證體系中。(檢測引子對序列如表一)

## 結果

在建立基因轉殖棉花定性檢測方法方面，以 Monsanto 及 Dow AgroSciences 公司所提供的單一轉殖品項去活性基因轉殖棉花商業種子(轉殖品項：MON531、MON1445、MON15985、MON88913、3006-210-23 與 281-24-236) 與非基因轉殖棉花種子為試驗材料。將這些試驗材料經均質機作用 30-45 秒後取種皮及種仁混合物，以核酸自動萃取機(Smart LabAsist-16)方法萃取核酸後，再以歐盟公告之基因轉殖棉花即時聚合酶鏈鎖反應 (Real-time polymerase chain reaction, 簡稱 Real-time PCR) 檢測方法進行 PCR 定性檢測試驗，並以電泳圖進行結果判定(圖一、圖二)。由圖一

及圖二的結果顯示，利用歐盟所公告之檢測方法，分別可在轉殖品項 MON531、MON1445、MON15985、MON88913、3006-210-23 與 281-24-236 中，各自得到預期 72 bp、87 bp、82 bp、94 bp、90 bp 及 111 bp 大小的目標片段。經過多次確認試驗後，將檢測流程方法撰寫成標準作業流程。另外，利用已建立之轉殖品項：T304-40、GHB119、3006-210-23 及 281-24-236 之定性檢測方法(圖三)，並以具 ERM 認證的 3 個轉基因棉花標準參考物質配置試驗樣品，提供給基因轉殖作物檢監測團隊中桃園場、農試所、鳳山分所及台南場檢測實驗室進行檢測技術之儀器與檢測穩定度試驗與能力試驗，四個實驗室的檢測結果，皆能在目標片段增幅出符合預期大小的條帶。

在建立基因轉殖小麥(MON71800)定性檢測方法方面，以基因轉殖玉米NK603標準參考物質(ERM-BF415)與一般小麥種子為試驗材料。將種子試驗材料經均質機作用30-45秒後，將參考物質及種子粉末分別以核酸自動萃取機(Smart LabAsist-16)方法萃取核酸，再以歐盟公告之基因轉殖棉花即時聚合酶鏈鎖反應(Real-time polymerase chain reaction，簡稱Real-time PCR)檢測方法進行PCR定性檢測試驗，並以電泳圖進行結果判定(圖三、圖四)。由圖三結果顯示，利用歐盟所公告之檢測方法，分別可在正對照樣品(NK603)中增幅出玉米管家基因(*Adh1*) 135 bp及轉殖品項108 bp大小的目標片段，確認此參考物質的正確性後，再以此參考物質進行CTP2-CP4epsps、T-nos與P-35序列片段定性檢測方法之試驗，由圖四結果顯示，利用歐盟聯合研究中心(Joint Research Centre, JRC)所公告之檢測方法，分別可在轉殖序列CTP2-CP4epsps、T-nos、P-35與小麥管家基因(*acc*)中，得到符合預期88 bp、84 bp、82 bp與54 bp大小的目標片段。

在建立基因轉殖番茄(FLAVR SAVR™)定性檢測方法方面，根據 GMO Detection method Database (GMDD)網站資料與歐盟所公告之檢測方法，以合成 pg 基因 cDNA(X05656)序列、基因轉殖玉米 Bt176 標準參考物質(ERM-BF411)(做為 CaMV 35S 啟動子序列的正對照)與一般番茄種子為試驗材料。將種子試驗材料先經均質機作用 30-45 秒後，將參考物質及種子粉末分別以核酸自動萃取機(Smart LabAsist-16)方法萃取核酸，再以檢測方法進行 PCR 定性檢測試驗，並以電泳圖進行結果判定。電泳分析結果顯示，可在正對照樣品(Bt176)中增幅出玉米管家基因(*Adh1*) 135 bp 及轉殖品項 82 bp 大小的目標片段，證明此參考物質的正確性後，再以此參考物質進行 CaMV 35S 序列片段定性檢測方法之試驗。由結果顯示，利用歐盟聯合研究中心(Joint Research Centre, JRC)公告之檢測方法與 GMO Detection method Database (GMDD)網站資料，可在轉殖序列 CaMV 35S、pg 基因 cDNA(X05656)與番茄管家基因(LAT52)中基因中，各自得到預期 195 bp、1180bp、92 bp 大小的目標片段。

## 討論

在本年度的試驗中，以轉殖基因棉花為目標進行定性檢測方法的確認及標準參考物質與轉殖棉花商業品種去活性種子的收集，試驗結果根據電泳分析圖，顯示依

據歐盟聯合研究中心發表的報告，以棉花商業品種去活性種子為樣品，可以增幅出轉殖品項 MON531、MON1445、MON15985、MON88913、3006-210-23 與 281-24-236 的專一性條帶。此外，透過購買具 ERM 認證的標準參考物質，經過基因轉殖作物檢測監測團隊中四個不同實驗室的能力試驗，顯示本研究所建立之轉殖品項 T304-40、GHB119、3006-210-23 及 281-24-236 定性檢測方法在不同實驗室間具有穩定性，因此完成建立前述四個基因轉殖棉花轉殖品項的標準作業流程。後續將持續收集其他轉殖品項之標準參考物質，以進行實驗室間能力試驗並陸續建立其檢測標準作業流程，強化對檢測方法的操作性與標準化。

另外，基因轉殖番茄與小麥，因無法蒐集到商業化品種及標準參考物質，因此根據相關文獻資料與歐盟聯合研究中心報告，以其他轉殖相同片段的轉殖品項之標準參考物質或合成序列做為檢測方法的正對照，試驗結果顯示在特定的反應條件下，可增幅出轉殖序列 CTP2-CP4epsps、T-nos、P-35、CaMV 35S 與 pg 基因 cDNA 的專一性條帶，因此結果建立基因轉殖番茄與小麥的檢測方法標準流程，未來可依據此流程檢測可疑的番茄與小麥樣品。

在本研究試驗進行的過程中，標準參考物質(正對照)的取得最具挑戰，許多轉殖品項無法取得合適的標準參考物質，增加檢測方法可信度的確認難度，因此將會是基因轉殖作物檢測監測團隊所需面對的問題，未來需進一步透過其他試驗計畫去建立具可信性的基因轉殖作物廣泛篩選檢測的方法，以解決現在所遭遇的問題。

## 參考文獻

1. 沈翰祖、陳駿季、邱展台、羅致速、李文立、張隆仁、林新強、楊藹華、王雲平、陳富永、王啟正、方繼、郭寶錚、包慧俊. 2006. 基因轉殖作物檢測監測體系之建立. 農業生技產業季刊. 5: 35-40.
2. 張建裕、張建國. 2006. 基礎PCR. 藝軒圖書出版社. P.122- 178.
3. 路曜聲、陳靜欣、李紀漢、沈翰祖. 2010. 基因轉殖木瓜種苗快速檢測方法之研究. 植物種苗. 12(4)：43-60.
4. 沈翰祖、郭寶錚. 2012基因轉殖作物監測體系之研究. 農業生技產業季刊. 29:30-38.
5. <http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/inquiry/InquireAdvance.aspx>
6. <http://gmdd.shgmo.org/event/view/24>
7. <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/entry?db=gmometh&id=ql-con-00-008&rq=QL-CON-00-008>
8. <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/entry?db=gmometh&id=ql-ele-00-011&rq=QL-ELE-00-011>
9. <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/entry?db=gmometh&id=qt-ele-00-004&q=QT-ELE-00-004>
10. [http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/GM\\_wheat.htm](http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/GM_wheat.htm)
11. <http://www.isaaa.org/>

12. Akiyama, H., Nakamura, F., Yamada, C., Nakamura, K., Nakajima, O., Kawakami, H., Harikai, N., Furui, S., Kitta, K. and Teshima, R. 2009. A Screening Method for the Detection of the 35S Promoter and the Nopaline Synthase Terminator in Genetically Modified Organisms in a Real-Time Polymerase Chain Reaction Using High-Resolution Melting-Curve Analysis. *Biol. Pharm. Bull.* 32(11) 1824—1829.
13. Burns, M. and H. Valdivia. 2007. A procedural approach for the identification of sources of uncertainty associated with GM quantification and real-time quantitative PCR measurements. *Eur. Food Res. Technol.* 226:7-18.
14. ISO. 2004. Conformity assessment – Vocabulary and general principles (ISO/IEC 17000:2004). Geneva, Switzerland. ISO.
15. ISO. 2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (ISO/IEC 17025:2005). Geneva, Switzerland: ISO.
16. Rolf Meyer. 1995. Detection of genetically engineered plants by polymerase chain reaction (PCR) using the Flavr Savr<sup>TM</sup> tomato as an example. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung.* 201(6) 583-586.

## **Abstract**

In this study, we are based on the European Union reference reports and related literatures used different primers for transgenic cotton detection. The PCR condition was follow Results are displayed in different specific transgenic event consist of MON531, MON1445, MON15985, MON88913,3006-210-23 and 281-24-236, each of them can be get the expected target fragment size as 72 bp, 87 bp, 82 bp, 94 bp, 90 bp and 111 bp. Three certified reference materials were used as sample to do proficiency test in four different laboratories. The results showed that these qualitative analysis methods can be used to detect transgenic cotton event consist of T304-40, GHB119, 3006-210-23 and 281-24 -236. After proficiency test, we established the standard operating procedures for the quality testing. In addition, we used the other reference materials or synthetic sequence that has same transgene fragments, as a positive control to develop transgenic tomato and wheat detection methods. The specific bands of CTP2-CP4epsps, T-nos, P-35, CaMV 35S and *pg* genes can be amplify under certain PCR conditions as the result of establishment of transgenic wheat (MON71800) and tomato (FLAVR SAVR <sup>TM</sup>) quality testing methods.

## 圖表

表 1. 基因轉殖棉花定性檢測技術之引子對資料

管家基因/轉殖 品項名稱	引子名稱	片段大小 (bp)	序列
SAH7	Sah7-f1	115、123*	5'- AGT TTG TAG GTT TTG ATG TTA CAT TGA G -3'
	Sah7-r1		5'- GCA TCT TTG AAC CGC CTA CTG -3'
281-24-36	281-f1	111	5'- CTC ATT GCT GAT CCA TGT AGA TTT C -3'
	281-r2		5'- GGA CAA TGC TGG GCT TTG TG -3'
3006-210-23	3006-f3	90	5'- AAA TAT TAA CAA TGC ATT GAG TAT GAT G -3'
	3006-r2		5'- ACT CTT TCT TTT TCT CCA TAT TGA CC -3'
AdHC	KVM157	73	5' - CAC ATG ACT TAG CCC ATC TTT GC - 3'
	KVM158		5' - CCC ACC CTT TTT TGG TTT AGC - 3'
GHB119	SHA021	90	5'- CCA GTA CTA AAA TCC AGA TCA TGC A-3'
	NEL109		5'- GAA ATT GCG TGA CTC AAA TTC C-3'
T304-40	SHA029	78	5'- AGC GCG CAA ACT AGG ATA AAT T-3'
	SHA030		5'- CCT AGA TCT TGG GAT AAC TTG AAA AGA-3'
Acp1	Acp1-f	76	5'- ATT GTG ATG GGA CTT GAG GAA GA -3'
	Acp1-r		5'- CTT GAA CAG TTG TGA TGG ATT GTG -3'
MON531	531-F	72	5'- TCC CAT TCG AGT TTC TCA CGT -3'
	53-1R		5'- AAC CAA TGC CAC CCC ACT GA -3'
MON1445	MON1445-F	87	5'- GGA GTA AGA CGA TTC AGA TCA AAC AC -3'
	MON1445-R		5'- ATC GAC CTG CAG CCC AAG CT -3'
MON15985	MON15985-F	82	5'- GTT ACT AGA TCG GGG ATA TCC -3'
	MON15985-R		5'- AAG GTT GCT AAA TGG ATG GGA -3'
MON88913	MON88913-F	94	5'- GGC TTT GGC TAC CTT AAG AGA GTC -3'
	MON88913-R		5'- CAA ATT ACC CAT TAA GTA GCC AAA TTA C -3'

\* Copies of the SAH7 protein gene are coded on the A-subgenome and the D-subgenome of *Gossypium hirsutum*. Both are detected with the method QT-TAX-GH-021 but the respective amplicons differ in length (A-subgenome: 115 bp, D-subgenome: 123 bp)

表 2. 基因轉殖小麥(MON71800)定性檢測技術之引子對資料

管家基因/轉殖 品項名稱	引子名稱	片段大小 (bp)	序列
Adh1	Adh1-F	135	5'- CCA GCC TCA TGG CCA AAG -3
	Adh1-R		5'- CCT TCT TGG CGG CTT ATC TG -3
NK603	NK603-F	108	5'- ATG AAT GAC CTC GAG TAA GCT TGT TAA -3'
	NK603-R		5'- AAG AGA TAA CAG GAT CCA CTC AAA CAC T

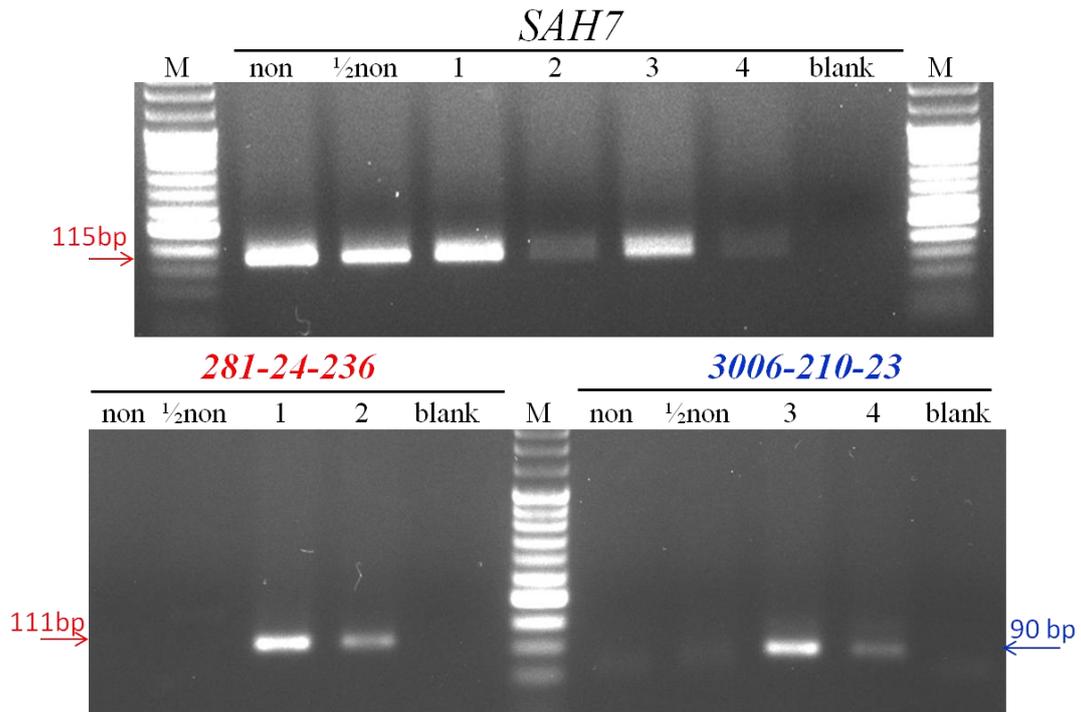
			-3'
<i>acc</i>	SQ0716	54	5'-GGG AGG CAT GCT TCG CT -3'
	SQ0717		5'-GCC GCC CAA TGC CAT A -3
CTP2-CP4epsps	PF	88	5'-GGG ATG ACG TTA ATT GGC TCT G-3'
	PR		5'-GGC TGC TTG CAC CGT GAA G-3'
T-nos	PF	84	5'-CAT GTA ATG CAT GAC GTT ATT TAT G-3'
	PR		5'-TTG TTT TCT ATC GCG TAT TAA ATG T-3'
P-35S	PF	82	5'-GCC TCT GCC GAC AGT GGT-3
	PR		5'-AAG ACG TGG TTG GAA CGT CTT C-3'
MON71800	SQ0718	95	5'-TTC TTC TCT CTC TTT GAA TCT CAA TAC AA-3'
	SQ0719		5'-CCC CCA TTT GGA CGT GAA -3'

註：藍色標記的引子序列已經進行合成，但未使用在本次研究試驗中

表 3. 基因轉殖番茄(FLAVR SAVR™)定性檢測技術之引子對資料

序列名稱	引子名稱	片段大小 (bp)	序列
LAT52	LAT52-F	92	5'-AGA CCA CGA GAA CGA TAT TTG C -3
	LAT52-R		5'-TTC TTG CCT TTT CAT ATC CAG ACA -3
X05656	PG34f	180	5'-GGA TCC TTA GAA GCA TCT AGT -3'
	PG34r		5'-CGT TGG TGC ATC CCT GCA TGG-3'
CaMV35S	35S-1	195	5'-GCT CCT ACA AAT GCC ATC A-3'
	35S-2		5'-GAT AGT GGG ATT GTG CGT CA -3'
	PCR1	427	5'-CCA CTG ACG TAA GGG ATG ACG -3'
	FS01		5'-AGG GGA AAG TGG AAA ACC ATC -3'
Tn5, <i>kan r</i>	TN5-1	173	5'-GGA TCT CCT GTC ATC T -3'
	TN5-2		5'-GAT CAT CCT GAT CGA C -3'

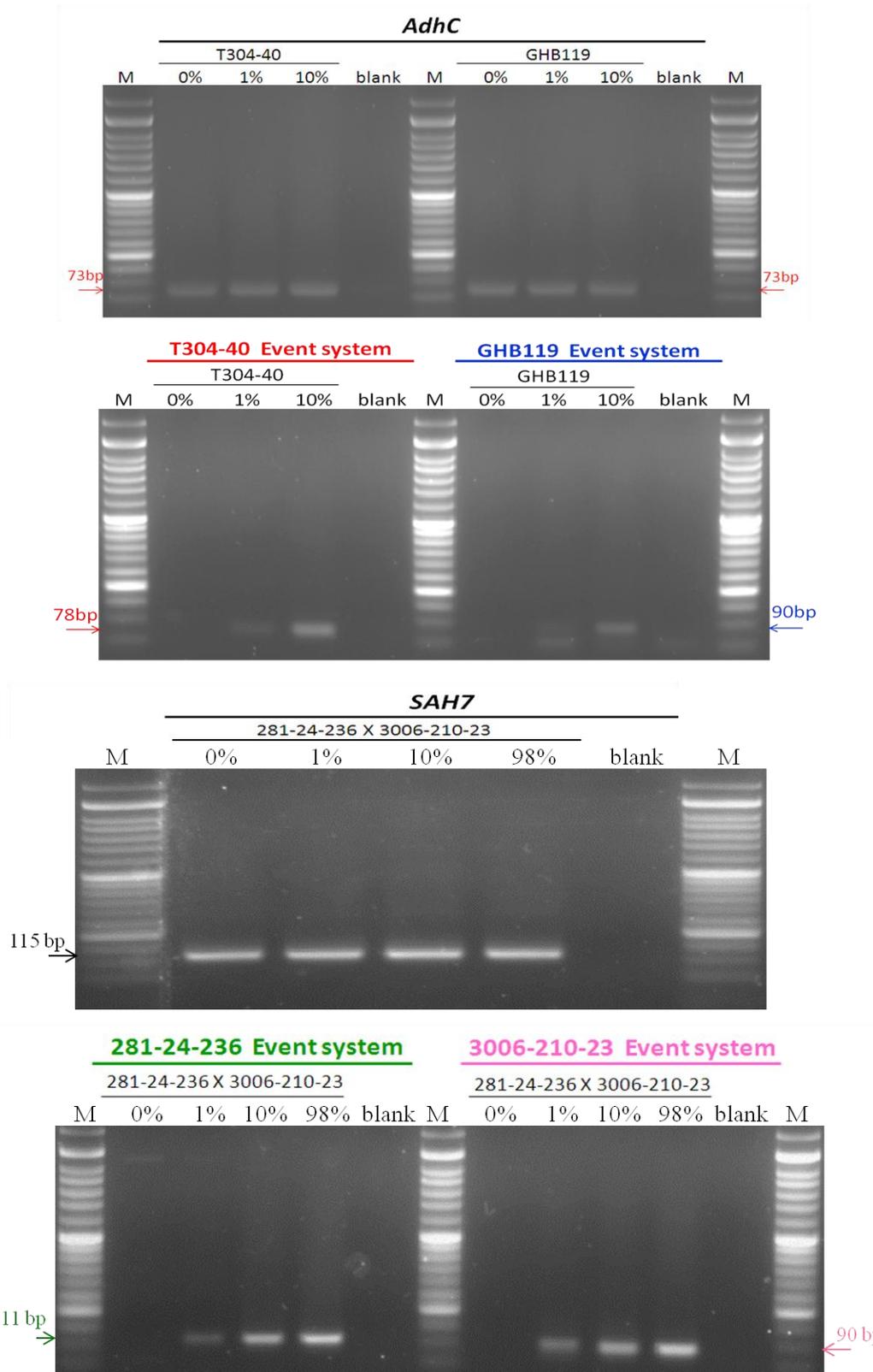
註：藍色標記的引子序列已經進行合成，但未使用在本次研究試驗中



圖一、轉殖品項 3006-210-23 與 281-24-236 之 GM 棉花 PCR 定性檢測

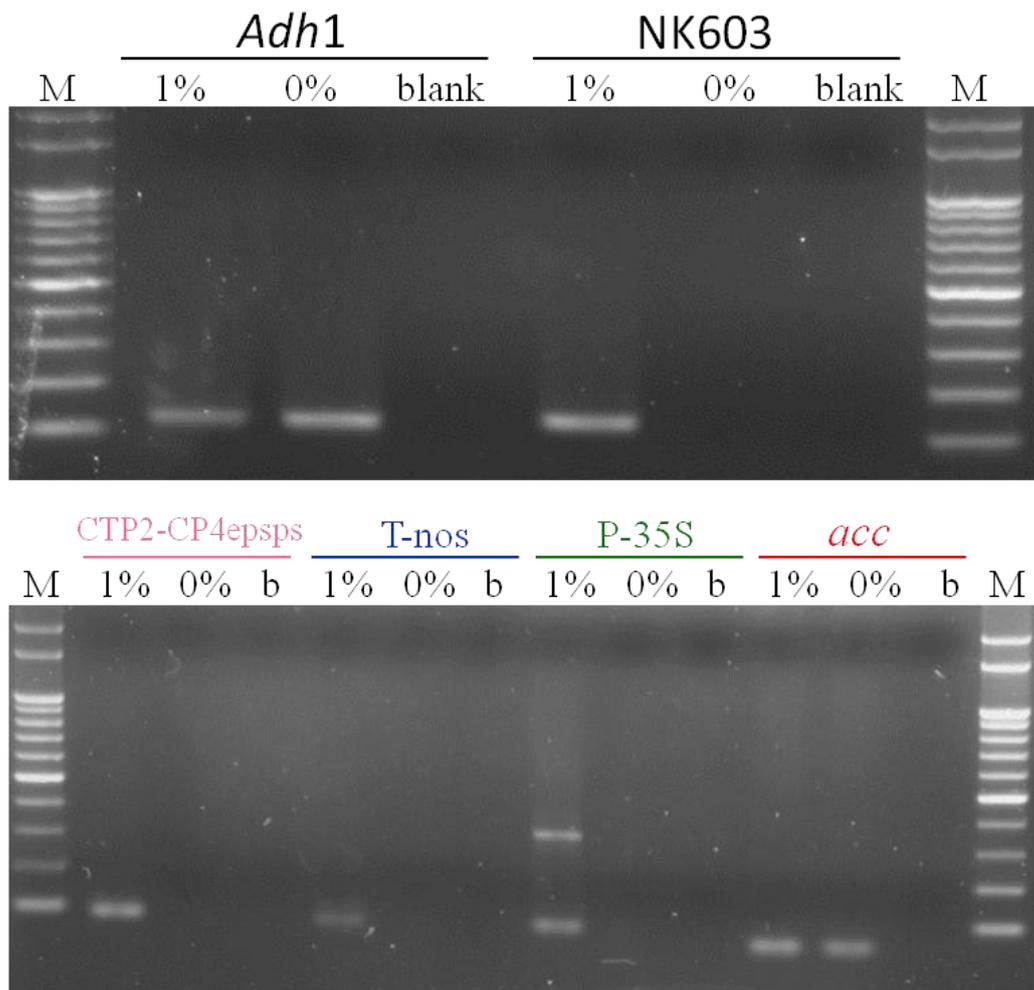
M : Gen50-Plus DNA Ladder ; non, 1/2non : 為非基因轉殖棉花種子 DNA ; 1, 2 : 為轉殖品項 281-24-236 之去活性棉花種子 DNA ; 3, 4 : 為轉殖品項 3006-210-23 之去活性棉花種子 DNA ; blank:DEPC-WATER(空白對照組)





圖三、轉殖品項 T304-40、GHB119、3006-210-23X281-24-236 之標準參考物質 PCR 定性檢測

M : Gen50-Plus DNA Ladder ; T304-40(0%、1%、10%)(ERM-BF429)、GHB119(0%、1%、10%)(ERM-BF428)及 281-24-236x3006-210-23(0%、1%、10%、100%)(ERM-BF422)：為標準參考物質 DNA；blank:DEPC-WATER(空白對照組)



圖四、基因轉殖小麥(MON71800)定性檢測方法

M : Gen100-Plus DNA Ladder ; 0%、1% : NK603(ERM-BF415)標準參考物質 DNA ;  
 blank:DEPC-WATER(空白對照組)