

# PCR-核酸试纸条法快速检测鸽子源性成分

田卓<sup>1,2</sup>, 曹际娟<sup>1,3\*</sup>, 崔妍<sup>2</sup>, 赵良娟<sup>4</sup>, 李宗梦<sup>4</sup> (1. 大连工业大学食品学院, 辽宁大连 116034; 2. 大连出入境检验检疫局, 辽宁大连 116400; 3. 辽宁出入境检验检疫局, 辽宁大连 116001; 4. 天津出入境检验检疫局, 天津 300201)

**摘要** [目的]提高动物源性成分检测效率,建立 PCR-核酸试纸条快速检测技术体系。[方法]针对物种特异性 DNA 序列,设计并标记引物;建立并优化 PCR 反应体系;利用通用核酸试纸条进行结果判读。[结果]试验表明,PCR-核酸试纸条特异性高;绝对灵敏度为 0.001 3 ng/ $\mu$ L,混合样品,实际灵敏度为 0.01%;加工处理样品,实际灵敏度为 0.1%;最低检测限检出率为 100%,稳定性良好。[结论]综上,PCR-核酸试纸条方法是一种既有 PCR 反应的高灵敏度,又具有免疫学检测的特异性好的特点,同时操作简便的快速检测方法。

**关键词** 核酸试纸条;动物源;食品安全

**中图分类号** TS207 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)20-083-03

## Rapid Detection of Dove Origin Ingredients by PCR-Nucleic Acid Test Paper

TIAN Zhuo<sup>1,2</sup>, CAO Ji-juan<sup>1,3\*</sup>, CUI Yan<sup>2</sup> et al (1. College of Food, Dalian Polytechnic University, Dalian, Liaoning 116034; 2. Dalian Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian, Liaoning 116400; 3. Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian, Liaoning 116001)

**Abstract** [Objective] In order to improve the efficiency of detecting ingredients of animal origin, the PCR-nucleic acid strip rapid detection technology system was established. [Method] In view of the species specific DNA sequences, primers were designed and marked; the PCR reaction system was established and optimized; the results were interpreted by the nucleic acid strip. [Result] The results showed that: the PCR-nucleic acid strip is high specificity; absolute sensitivity is 0.001 3 ng/ $\mu$ L; the actual sensitivity in mixed samples is 0.01%; the actual sensitivity in processing sample is 0.1%; the detection rate of minimum detection limit is 100%, the stability is good. [Conclusion] To sum up, the high sensitivity as PCR and high specificity as immunology made the PCR-chromatography strip valuable for the rapid detection method.

**Key words** Nucleic acid test paper; Animal origin; Food safety

近年来,我国食品市场上一些不法分子为牟取暴利,在肉制品中掺杂使假、以假乱真。如 2013 年初,欧洲的“马肉风波”愈演愈烈,使得消费者“闻马色变”;近日欧美的“鱼肉风波”又一次拉响了食品安全的警钟。动物源性食品及饲料的安全隐患直接关系到人类的安危,引起了各国政府和消费者对食品及饲料的安全性高度关注。因此,迫切需要建立食品及饲料中动物源性成分快速、准确、简便的检测鉴定方法,对食品及饲料中动物源性成分检测鉴定,有利于保护消费者健康,维护消费者利益,防止疫情疫病的传入传出,并避免假冒伪劣食品的出现。

在动物源性成分检测方法中,基于核酸的分子生物学技术应用最为广泛,其中包括 DNA 测序、物种特异性 PCR、实时定量 PCR、RFLP 等。PCR(聚合酶链反应)技术最早由 Mullis 等于 1986 年提出<sup>[1]</sup>,因其特异性强、敏感度高、操作简便等优点,目前已被广泛用于各种动物源性成分<sup>[2-6]</sup>和其他过敏原及细菌<sup>[7-8]</sup>的快速检测。但同时 PCR 技术有一定的局限性,技术含量高,电泳检测耗时、程序复杂、EB 染色时对环境有危害、依赖于昂贵的设备等。因此,要在大量的日常检测和快速筛查工作中构建食品安全保障体系,就需要开发一些不依赖贵重仪器设备的、快速准确的现场检测试剂和简单、方便、经济的检测技术。

胶体金免疫层析法是一种快速的免疫学测定方法<sup>[9]</sup>,具有简便、快速、准确等优点<sup>[10]</sup>,在甲型 H1N1 病毒<sup>[11-12]</sup>、外源

基因 *EPSPS*<sup>[13]</sup> 的检测等方面也有应用,在动物源性食品检测中的应用主要在于质量控制<sup>[14]</sup>、病原微生物检测<sup>[15]</sup> 领域等。PCR-核酸试纸条则是利用 PCR 与通用免疫金标层析试纸条相结合的方法重新设计、标记引物,优化反应体系,以通用免疫金标层析试纸条为载体进行结果判读。笔者以鸽子肉为试验材料,建立一种 PCR-核酸试纸条快速检测方法,充分利用 PCR 检测的高灵敏度、特异性强的特点,又结合了免疫金标试纸条简便、快捷、成本低的优势,实现对 PCR 结合试纸条检测,使检测结果可视化,直观简便,易于操作,对加工动物源性食品的质量进行把关,有利于维护消费者利益,保障人民生命安全,为打击违法行为提供技术支撑。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 市场购买鸽子肉 1 kg,鸡、鸭、猪肉各 1 kg,牛肉 5 kg,采集肌肉组织。天根动物组织基因组 DNA 提取试剂盒;TaKaRa Ex Taq Hs DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ L);TaKaRa dNTP Mixture (2.5 mmol/L);10X Ex Taq Buffer TaKaRa;Agilent DNA Chips (5067-1504)、Agilent DNA 1000 Markers、Agilent DNA 1000 Ladder,安捷伦科技(中国)有限公司;PCR-核酸试纸条及展开液,天津出入境检验检疫局。

## 1.2 方法

**1.2.1 检测原理。**该研究标准采用 PCR 结合通用免疫金标层析试纸条的方法:根据物种特异性基因设计特异性引物,一条引物的 5'端标记异硫氰酸荧光素 (FITC),另一条引物的 5'端标记生物素 (biotin)。PCR 扩增产物经过试纸条检测,试纸条质控线变红色,且检测线变红色,PCR 扩增产物为阳性;试纸条质控线变红色,检测线不变色,PCR 扩增产物为阴性。PCR 阳性产物经测序进行确证。

**基金项目** 国家质检总局课题项目(2014IK105)。

**作者简介** 田卓(1982-),女,辽宁沈阳人,工程师,从事食品安全研究。\*通讯作者,研究员,博士,从事食品安全研究。

**收稿日期** 2016-05-27

**1.2.2 DNA 提取。**采用天根动物组织基因组 DNA 提取试剂盒进行提取。

**1.2.3 引物设计。**经反复检测验证,确定鸽子源性成分检测靶序列及特异性引物如下:CAATCCAAACCCATGATTCT-TCCAGGAGTAATCCTACTGCTCACTCTTATAGCAACTGCCT-TCGTAGGTTATGCTCTGCCATGAGGACAAATATCGTTCTGAGGAGCTACCGTAATTACCAACTTATTTTCAGCCCTCCCATAC-ATCGGACAGACCCTGCTAGAATGAGCCTGAGGAGGATTCTC-AGTGGATAACCCAACCCCTAACCCGATTCTTCGCCATTCACTT-CCTACTACCCTTTTAATCGCAGGAATCACCC。引物为:①dove - C - F。5' - CAATCCAAACCCATGATTCTTC - 3',5'端标记异硫氰酸荧光素 (FITC)。②dove - C - R。5' - GAG-TAGTGCAGGGAATAGTATTGAG - 3',5'端标记生物素 (biotin)。③扩增片段。扩增鸽子线粒体基因组 CYTB 区域一段长度为 252 bps 的 DNA 片段。

**1.2.4 PCR 扩增体系的优化。**对 PCR - 核酸试纸条反应体系进行优化,确定反应体系为:DNA 模板 1.0  $\mu\text{L}$ ,上、下游引物各 0.8  $\mu\text{L}$ ,dNTP 2.0  $\mu\text{L}$ ,10X PCR buffer 2.0  $\mu\text{L}$ ,HS *Taq*

DNA polymerase 0.2  $\mu\text{L}$ ,ddH<sub>2</sub>O 13.2  $\mu\text{L}$ ,总体积为 20  $\mu\text{L}$ 。反应条件为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,56  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s,30 个循环后进入 72  $^{\circ}\text{C}$ 、5 min。

**1.2.5 PCR - 核酸试纸条反应。**取 5  $\mu\text{L}$  PCR 产物于核酸试纸条样品垫,用 200  $\mu\text{L}$  移液器吸取展开液,滴 4 ~ 5 滴进行检测,5 min 后观察结果,在空白对照试纸条质控线变红色,检测线不变色;阳性对照试纸条质控线变红色,检测线变红色的条件下:试纸条质控线变红色,且检测线变红色,PCR 扩增产物为阳性,初筛结果检出鹌鹑成分;试纸条质控线变红色,检测线不变色,PCR 扩增产物为阴性,未检出鹌鹑成分。同时进行凝胶电泳检测。

## 2 结果与分析

**2.1 引物特异性试验** 以上述 PCR - 核酸试纸条反应体系及程序进行特异性检测,分别以取自鸽子的鸽子肉为阳性对照品,选择动物样品牛、羊、马、猪、鼠、兔、狗、猫、鸡、鸭、鹅及植物样品胡萝卜、洋葱等的基因组 DNA 为阴性对照,以无菌水为空白对照。结果显示,特异性较好,能对鸽子成分样品进行有效扩增,电泳及试纸条结果见图 1。

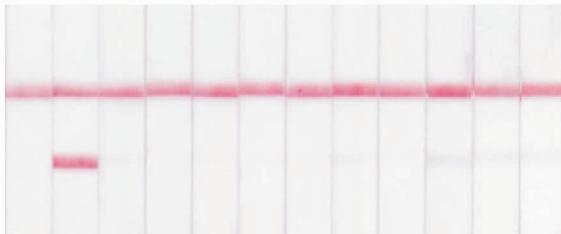


图 1 鸽子源性成分特异性引物 PCR - 试纸条及电泳特异性检测结果

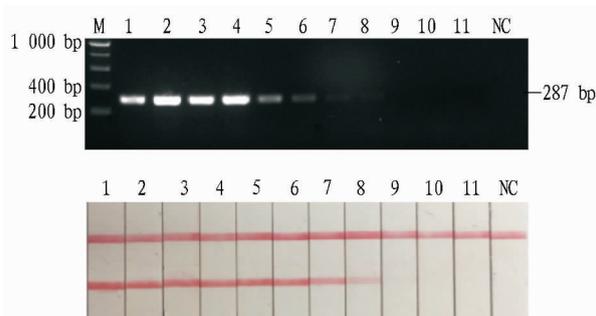
Fig. 1 PCR-strip and electrophoresis specificity test results of the dove origin components specific primer

## 2.2 灵敏度检测

**2.2.1 PCR - 核酸试纸条方法的绝对灵敏度试验。**将鸽子基因组 DNA 5 倍倍比稀释,使其浓度为 100、20、4、0.8、0.16、0.032、0.006 4、0.001 3、0.000 3、0.000 1、0.000 02  $\text{ng}/\mu\text{L}$ 。结果显示,电泳方法在浓度为 0.16  $\text{ng}/\mu\text{L}$  时有明亮条带,在浓度 0.032  $\text{ng}/\mu\text{L}$  时条带不清晰。PCR - 核酸试纸条在浓度为 0.001 3  $\text{ng}/\mu\text{L}$  时检测线显示红色,为阳性,在浓度为 0.000 3  $\text{ng}/\mu\text{L}$  时检测线不显色,为阴性。结果表明,在绝对灵敏度方面,PCR - 层析试纸条方法具有较高的灵敏度,比电泳方法高 100 倍。电泳及试纸条结果见图 2。

**2.2.2 鸽子肉和鸽子肉 DNA 实际灵敏度检测。**为了验证该方法对鸽子肉及鸽子肉 DNA 检测的实际灵敏度,对混合 DNA 样品和混合肉样品分别进行了检测。以鸽子肉为阳性样品,以牛肉模拟掺假样品,将鸽子肉与牛肉切片,60  $^{\circ}\text{C}$  烘干,研磨成粉末,过 18 目筛筛取粉末,制备鸽子肉 - 牛肉的混合模拟样品,以鸽子肉肉粉的质量百分比 (W/W) 为 100%、50%、25%、10%、5%、1%、0.1%、0.01%、0.001% 比例混匀,提取基因组 DNA,DNA 浓度调至 5  $\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

将浓度均为 5  $\text{ng}/\mu\text{L}$  的鸽子肉 DNA 与牛肉 DNA 混合,使混合物中鸽子肉 DNA 含量依次为 100%、50%、25%、10%、5%、1%、0.1%、0.01%、0.001%。对模拟样品进行灵



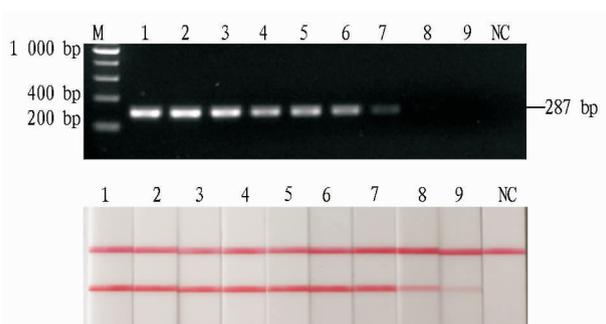
注:M. Marker;NC. 阴性对照。

Note:M. Marker;NC. Negative control.

图 2 鸽子源性成分绝对灵敏度 PCR - 试纸条及电泳检测结果  
Fig. 2 The absolute sensitivity of PCR-strip and electrophoresis test results of dove origin components

敏度检测,试验所用样品均设置了 3 次重复。PCR - 试纸条检测结果表明,当鸽子肉在混合肉品中的比例为 100%、50%、25%、10%、5%、1%、0.1%、0.01% 时,试纸条质控线和检测线均能显示红色条带,最低检测限均可达 0.01%。电泳及试纸条结果见图 3。

**2.2.3 加工处理样品灵敏度检测。**将鸽子肉和牛肉样品分别用 100  $^{\circ}\text{C}$  高温 2 h,油煎 5 min,以未处理的样品作对照。结果发现,经高温和油煎 2 种方式加工处理后,检测最低检测

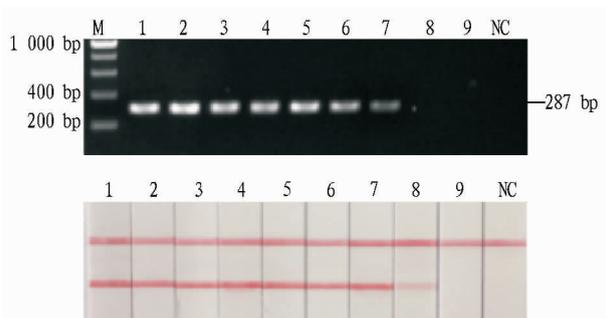


注: M. Marker; NC. 阴性对照。

Note: M. Marker; NC. Negative control.

图3 鸽子源性成分实际灵敏度 PCR - 试纸条及电泳检测结果  
Fig.3 The actual sensitivity of PCR-strip and electrophoresis test results of dove origin components

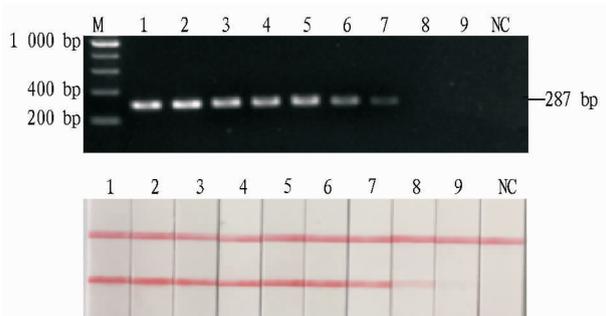
限降低为 0.10%。电泳及试纸条检测结果如图 4、5 所示。



注: M. Marker; NC. 阴性对照。

Note: M. Marker; NC. Negative control.

图4 油煎 5 min 鸽子源性成分实际灵敏度 PCR - 试纸条及电泳检测结果  
Fig.4 The actual sensitivity of PCR-strip and electrophoresis test results of fried 5 min dove origin components



注: M. Marker; NC. 阴性对照。

Note: M. Marker; NC. Negative control.

图5 100 °C 高温 2 h 鸽子源性成分实际灵敏度 PCR - 试纸条及电泳检测结果  
Fig.5 The actual sensitivity of PCR-strip and electrophoresis test results of 100 °C 2 h dove origin components

**2.3 最低检测限稳定性检测** 用 PCR - 核酸试纸条法, 将未处理的 0.01% 鸽子肉和牛肉混合样品及高温和油煎 2 种加工处理的 0.1% 鸽子肉 - 牛肉样品的 DNA 重复进行低限稳定性检测, 最低浓度样品重复检测 20 次, 分别以对应处理方式的鸽子肉、牛肉的 DNA 为阳性对照和阴性对照。结果发现, 未经任何处理的 0.01% 鸽子肉 - 牛肉样品及高温和油

煎 2 种不同方式加工处理的 0.1% 鸽子肉 - 牛肉样品, 20 次试纸条检测检测线均变红, 即检测低限的稳定性较好, 检出率为 100%。详见表 1。

表 1 最低检测限稳定性检测结果

Table 1 The minimum detection limit stability test results

加工方式 Processing way	样品 Sample	结果 Results	判定 Determination
未处理 Untreated	鸽子(100%)	红色	阳性
	0.01% 20 次	红色	阳性
	牛肉	—	阴性
100 °C 2 h	空白对照	—	—
	鸽子(100%)	红色	阳性
	0.1% 20 次	红色	阳性
油煎 5 min Fried 5 min	牛肉	—	阴性
	空白对照	—	—
	鸽子(100%)	红色	阳性
油煎 5 min Fried 5 min	0.1% 20 次	红色	阳性
	牛肉	—	阴性
	空白对照	—	—

### 3 结论与讨论

该研究以鸽子肉为例, 建立了 PCR - 核酸试纸条方法用来检测动物源性成分, 同时用电泳方法进行比较, 对 2 种方法的特异性、绝对灵敏度、实际灵敏度、最低检测限稳定性结果进行了比较。结果表明, 2 种方法的特异性良好, 灵敏度方面 PCR - 核酸试纸条方法优于普通 PCR 方法, 并且检测限更低, 稳定性好。由试验结果可以看出, PCR - 核酸试纸条呈现出良好的特异性; 绝对灵敏度方面, 电泳方法的检测限为 0.16 ng/μL, PCR - 层析试纸条为 0.001 3 ng/μL, 高于电泳 100 倍; 实际灵敏度方面, 普通 PCR 为 1%, PCR - 层析试纸条为 0.01%, 比电泳检测灵敏度高出 100 倍; 检测低限为 0.01% ~ 0.10%。方法特异性强, 稳定性好, 适用于动物源性成分检测。

PCR - 核酸试纸条技术是通过核酸引物或探针两端修饰相应标记物(如生物素、荧光素), 同时在试纸条上相应位置标记对应抗体, 实现核酸产物的试纸条检测。目前此技术已经在转基因黑曲霉<sup>[16]</sup>、艾滋病病毒(HIV)<sup>[17]</sup>、丙型肝炎病毒<sup>[18]</sup>、线虫<sup>[19]</sup>、HBV DNA<sup>[20]</sup>中得到应用, 在灵敏度方面均优于电泳方法, 检测时间大大缩短, 并且对环境友好, 处理简单。

灵敏度、准确性、特异性、通量、便捷性等都是衡量检测方法优劣的重要指标。我国现有的社会经济条件下, 需要在大量的日常检测和快速筛查工作中构建食品安全保障体系, 就需要开发一些不依赖贵重仪器设备的、快速准确的现场检测试剂和简单、方便、经济的检测技术。PCR - 核酸试纸条技术使得有关的检测工作能在口岸快速筛查、基层或偏远经济不发达地区顺利开展, 为进行分子生物学检测广泛的应用和推广提供一种新的安全、便捷手段, 及时发现问题、解决问题提供技术支持。

### 参考文献

- [1] MULLIS K, FALOONA F, SCHARF S, et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction[J]. Cold spring harbor symposia on quantitative biology, 1986, 51 (Pt 1): 263 - 273.

(下转第 117 页)

- [6] GASTEIGER E, GATTIKER A, HOGLAND C, et al. ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 3784–3788.
- [7] 王庭华, 邹晓莉. 蛋白质理论与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 171.
- [8] COMBET C, BLANCHET C, GEURJON C, et al. Network protein sequence analysis[J]. *TIBS*, 2000, 25(3): 147–150.
- [9] GEURJON C, DELEAGE G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments[J]. *Comput Appl Biosci*, 1995, 11: 681–684.
- [10] SCHULTZ J, MILPETZ F, BORK P, et al. SMART, a simple modular architecture research tool: Identification of signaling domains[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 5857–5864.
- [11] LETUNIC I, DOERKS T, BORK P. SMART 6: Recent updates and new developments[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 229–232.
- [12] JENSEN L J, GUPTA R, BLOM N, et al. Prediction of human protein function from post-translational modifications and localization features[J]. *J Mol Biol*, 2002, 319(5): 1257–1265.
- [13] 罗红艺. C<sub>4</sub> 植物和 CAM 植物的比较[J]. 高等函授学报(自然科学版), 2001, 14(5): 35–38.
- [14] 腾胜, 钱前, 黄大年. C<sub>4</sub> 光合途径的分子生物学和基因工程研究进展[J]. 农业生物技术学报, 2001, 9(2): 198–201.
- [15] CAMERON R G, BASSETT C L, BOUTON J H, et al. Transfer of C<sub>4</sub> photosynthetic character through hybridization of *Flaveria* species[J]. *Plant Physiol*, 1989, 90: 1538–1545.
- [16] CHEN X Q, ZHANG X D, LIANG R Q, et al. Expression of the intact C<sub>4</sub> type PEPC gene cloned from maize in transgenic winter wheat[J]. *Chin Sci Bull*, 2004, 49: 2137–2143.
- [17] XIANG X C, HE L B, SUN J M, et al. Effect of maize PEPC gene in different genetic backgrounds of CMS maintainers and tolerance to photooxidation in the PEPC transgenic line[J]. *Chin J Rice Sci*, 2009, 23(3): 257–262.
- [18] KU M S B, AGARIE S, NOMURA M, et al. High level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants[J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17: 76–81.
- [19] HUDASPEETH R L, GRNLA J W, DAI Z Y, et al. Expression on maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic tobacco[J]. *Plant Physiol*, 1982, 98: 458–464.
- [20] 赵艳, 陈丽梅, 李昆志. C<sub>4</sub> 光合作用关键酶 PEPC 的反应机制[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(23): 6113–6114, 6118.
- [21] RAO S K, MAGNIN N C, REISKIND J B, et al. Photosynthetic and other phosphocnolpyruvate carboxylase isoforms in the single-cell, facultative C(4) system of *Hydrilla verticillata* [J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(2): 876–886.
- [22] MAGNIN N C, COOLEY B A, REISKIND J B, et al. Regulation and localization of key enzymes during the induction of Kranz-leser, C<sub>4</sub> type photosynthesis in *Hydrilla verticillata* [J]. *Plant Physiol*, 1997, 115: 1681–1689.
- [23] VOZNESEUSKAYA E V, FRANESECHI V R, KHIRATS O, et al. Proof of C<sub>4</sub> photosynthesis without Kranz anatomy in *Bienertia cycloptera* (Chenopodiaceae) [J]. *Plant J*, 2002, 31: 649–662.
- [24] CUSHMAN J C, MEYER G, MICHALOWSKI C B, et al. Salt stress leads to differential expression of two isogenes of phosphocnolpyruvate carboxylase during Crasulacean acid metabolism induction in the common ice plant [J]. *Plant cell*, 1989, 1: 715–725.
- [25] FONTAINE V, CABANE M, DIZENGREMD P. Regulation of phosphocnolpyruvate carboxylase in *Pinus halepensis* needles submitted to ozone and water stress[J]. *J Physiol Plant*, 2003, 117(4): 445–452.
- [26] HUO S P, YAN Q J, SONG G Y, et al. Progress in morphological and physiological and biochemical indexes of drought resistance[J]. *Agricultural research in the arid areas*, 1995, 13(3): 67–73.
- [27] JEANNEAU M, GERENTES D, FOUALASEAR X, et al. Improvement of drought tolerance in maize: Towards the functional validation of the *Zm-Asr1* gene and increase of water use efficiency by over-expressing C<sub>4</sub> – PEPC[J]. *Biochimie*, 2002, 84(11): 1127–1135.
- [28] NAIDU S L, MOOSE S P, AL-SHOAIBI A K, et al. Cold tolerance of C<sub>4</sub> photosynthesis in *Miscanthus × Giganteus*: Adaptation in amount and sequence of C<sub>4</sub> photosynthetic enzymes[J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(3): 1688–1697.
- [29] KUBIEN D S, VON CAEMMERER S, FURBANK R T, et al. C<sub>4</sub> photosynthesis at low temperature. A study using transgenic plants with reduced amounts of Rubisco[J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(3): 1577–1585.
- [30] GONZALEZ M C, SANEHEZ R, CEJUDO F J. Abiotic stresses affecting water balance induce phosphocnolpyruvate carboxylase expression in roots of wheat seedlings[J]. *Planta*, 2003, 216(6): 985–992.

## (上接第 85 页)

- [2] 中国检验检疫科学研究院. 食品及饲料中常见禽类品种的鉴定方法第 6 部分: 鹌鹑成分检测 实时荧光 PCR 法; SN/T 3731. 6—2013[S]. 北京: 国家认证认可监督管理委员会, 2013.
- [3] TAJIMA K, ENISHI O, AMARI M, et al. PCR detection of DNAs of animal origin in feed by primers based on sequences of short and long interspersed repetitive elements[J]. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 2002, 66(10): 2247–2250.
- [4] 孙艳华, 张智勇, 牛晋阳, 等. PCR 法快速检测熟肉制品中肉类来源[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(5): 139–142.
- [5] SOARES S, AMARAL J S, MAFRA I, et al. Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay[J]. *Meat science*, 2010, 85(3): 531–536.
- [6] KNOB A, TERRASAN C R F, CARMONA E C.  $\beta$ -Xylosidases from filamentous fungi: An overview[J]. *World journal of microbiology and biotechnology*, 2010, 26: 389–407.
- [7] 王海艳, 陈颖, 杨海荣, 等. 食品过敏原胡桃 PCR 检测方法研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(1): 214–218.
- [8] 巢强国, 杨学明, 葛宇, 等. PCR 法检测食品中大肠杆菌 O157:H7[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 212–215.
- [9] 杨冬梅, 杨永存, 杨小柯, 等. 物种特异性基因扩增鉴别掺假食用植物油[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(9): 2120–2125.
- [10] 潘嘉慧, 田峻, 沈国权, 等. 胶体金免疫层析法检测食品中的呋喃唑酮代谢物残留[J]. 兽药导刊, 2014, 11(16): 25–26.
- [11] WU L T, CURRAN M D, ELLIS J S, et al. Nucleic acid dipstick test for molecular diagnosis of pandemic H1N1[J]. *Journal of clinical microbiology*, 2010, 48(10): 3608–3613.
- [12] 张永乐, 历小玉, 潘克女, 等. 甲型 H1N1 流感病毒快速诊断核酸试纸条的研制及应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(14): 2871–2873.
- [13] 汪琳, 罗英, 周琦, 等. 柏亚铎核酸试纸条在检测转 EPSPS 基因作物中的应用[J]. 生物技术通讯, 2011, 22(2): 238–242.
- [14] 李忠秋, 刘春龙, 王伟伟, 等. 免疫胶体金半定量检测牛初乳 IgG 含量方法的建立及初步应用[J]. 中国奶牛, 2006(1): 12–15.
- [15] DA P P, SI S H, YAN H, et al. Comparison of a new gold-immunochromatographic assay for the detection of antibodies against avian influenza virus with hemagglutination inhibition and agar gel immunodiffusion assays[J]. *Veterinary immunology and immunopathology*, 2007, 117(2): 17–25.
- [16] 张裕君, 贺艳, 赵卫东, 等. PCR 核酸试纸条法检测转基因黑曲霉[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(20): 62–64.
- [17] 黄欢, 李朔, 孙雨洲, 等. 长引物快速 PCR 结合核酸试纸条法可视化检测四种病原体[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(6): 436–439.
- [18] WANG C F, ZHANG L F, SHEN X M, et al. Development of a nucleic acid lateral flow strip for detection of hepatitis C virus (HCV) core antigen[J]. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*, 2013, 32(2): 59–68.
- [19] 张裕君, 王金成, 魏亚东. 可视化核酸试纸条法快速检测松材线虫[J]. 植物保护, 2013, 39(4): 94–98.
- [20] 杨贤, 黄欢, 殷竹君, 等. 高灵敏可视化核酸试纸条法快速检测 HBV DNA[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(7): 1277–1281.