

旋达®R1转基因检测系列

PAT 基因核酸检测试剂盒（一管式 PCR-荧光探针法）

请于-20℃条件下保存,有效期 12 个月

◆ 产品说明

旋达®R1 转基因检测系列可针对食品、饲料等样品中转基因成分的特异核酸片段进行扩增,通过实时扩增曲线判定结果。本产品用于 PAT 基因成分的检测, **检出限为 0.1%**。

◆ 产品组成 (48 测试)

041052M II	
试剂	含量
A-PAT-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG -P	100μL × 2 支
PG-PAT-P	100μL × 1 支

◆ 适用仪器

ABI 7500、CFX 96、Mx 3005P、LineGene9600 等实时荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①冰盒；②移液器（0.5-10μL, 10-100μL, 100-1000μL）及配套灭菌吸头；③离心机；④涡旋混匀器；⑤金属浴；⑥均质机、搅拌机或研钵等研磨器具；⑦电子天平。

◆ 注意事项

1. 本试剂检测灵敏度高。为了防止污染,实验要分区操作。
 - 1) 第一区: 样本制备区。
 - 2) 第二区: 模板添加区。
 - 3) 第三区: 扩增及产物分析区。

★ 分区之间最好进行物理性隔离,避免人为因素造成的污染。
2. 实验过程中穿戴工作服和乳胶手套,不同区域独立使用工具,需更换手套和实验服。
3. 严格按照操作步骤操作,试剂配制和加样等步骤请严格按照说明书要求在冰盒上操作。
4. 反应液中的成分对光敏感,应**避光保存**。试剂使用前要完全解冻,但应避免反复冻融,推荐使用前离心 30 秒,并按检测频次将反应液以适当体积分管保存。
5. 反应结束后,扩增管请置于密封袋内丢弃,当日清理,开盖易造成气溶胶污染,禁止开盖。
6. 不同批号试剂请勿混合使用,在有效期内使用。

◆ 样品处理

参照《GB/T 19495.3-2004 转基因产品检测 核酸提取纯化方法》或其他标准处理样品,除了处于食物和（或）饲料链起始端的农产品和粗加工材料（如粉碎的产品）,大多数工业加工的食品经过了物理、化学及酶的处理。这些处理会降低 DNA 的含量及纯度。因此,每一方法的适用性及重复性会随特异样品而异,一种特定的 DNA 提取方法的性质特征依赖于被研究的食品种类。实验室样品的代表性应符合《GB/T 19495.7-2004 转基因产品检测 抽样和制样方法》。制备的样本保存待用。

详细步骤请按照标准操作或查阅食安通软件。

★ 若使用非一次性研磨器研磨样品,一定要彻底清洗研磨器并充分干燥后再进行下一份样品的研磨,防止交叉污染。

◆ 实验操作

1. 模板制备（样本制备区）

建议使用配套植物基因组 DNA 提取试剂盒，具体过程详见产品说明书。

2. 添加模板（模板添加区，放置于冰盒上进行）

剪下所需测试数的已含有反应液的 PCR 管，放置在室温待解冻后，离心 30 秒后揭开封口膜，向每管反应液中分别加入 5 μ L 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-PAT-P。盖好配套的 PCR 管盖后，涡旋混匀 30s，离心 1min，立即进行 PCR 扩增反应。

3. 扩增反应（扩增及产物分析区）

使用荧光定量 PCR 仪，荧光基团选择 FAM，淬灭基团选择 TAMRA。

按下列条件设置扩增反应：

PCR 循环			荧光收集位点
95 $^{\circ}$ C	10 分钟	1 个循环	—
95 $^{\circ}$ C	15 秒	40 个循环	—
60 $^{\circ}$ C	1 分钟		※

4. 基线和阈值设定

基线调整取 3-15 个循环的荧光信号，阈值线应超过阴性对照扩增曲线的最高点

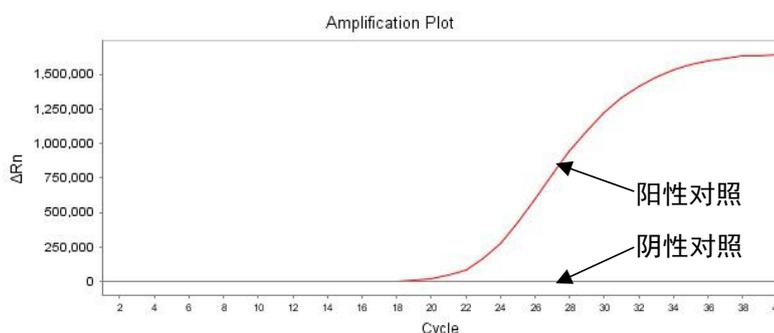
◆ 结果判定

检测样品无 Ct 值或 ≥ 40 ，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可报告样品阴性，不含有 PAT 基因或含量低于检出限；

检测样品 $Ct \leq 36$ ，曲线呈“S”型扩增曲线，可直接报告样品阳性，含有 PAT 基因；

检测样品 $36 < Ct < 40$ ，需进行一次重复实验，若 Ct 值仍处于 36 和 40 之间且呈“S”型扩增曲线，同时各种实验对照结果正常，报告样品阳性，否则报告样品阴性。

★NG 反应为平滑直线，PG 反应为“S”型扩增曲线，此次检测结果有效，否则无效。如重复检测结果仍为无效，请与技术支持人员联系。



参考结果图

◆ 企业信息

广州双螺旋基因技术有限公司

网址：www.dhelix.cn

电话：020-85671013

传真：020-34037175

地址：广州国际生物岛螺旋四路 7 号标准产业单元二期第三栋第三层 302 单元