

## 旋达<sup>®</sup>R1 转基因检测系列

转基因水稻品系 KMD 核酸检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)

请于-20℃条件下保存, 有效期 15 个月

### ◆ 产品说明

**旋达<sup>®</sup>R1** 基于独特的荧光探针技术, 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。本产品用于水稻及其加工产品中转基因水稻品系 (KMD) 的检测, 使用方法简便, 灵敏度较高, **检出限为 0.1%**。

### ◆ 产品组成 (48 测试)

044122M	
试剂	含量
A- KMD-P	1000 μL × 1 支
NG-P	100 μL × 2 支
PG- KMD-P	100 μL × 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 (0.5-10 μL, 10-100 μL, 100-1000 μL) 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: 试剂准备区。
  - 2) 第二区: 样本制备区。
  - 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。

★ 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. 试剂配制 (试剂准备区, 放置于冰盒中进行):

若有 N 个待检样品, 则参照下表, 按照 N+2 个数量计算反应液用量 (N 个待检样品+1 个空白对照+1 个阳性对照), 涡旋混匀, 离心 30 秒, 分装于 0.2mL PCR 管中。

试剂	使用量
A-KMD-P	20×(N+2) μL
反应液总体积	20×(N+2) μL

2. 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。

3. 添加模板（样本制备区，放置于冰盒上进行）

在步骤 1 中已含有反应液的 PCR 管中加入 5 μL 模板，顺序为 NG-P、待测样品模板、PG-KMD-P。涡旋混匀，离心 30 秒，立即进行 PCR 扩增反应。

4. 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 NONE。

按下列条件设置扩增反应：

	PCR 循环			荧光收集位点
	去污染	37℃	10 分钟	1 个循环
预变性	95℃	5 分钟	1 个循环	—
扩增	95℃	15 秒	40 个循环	—
	60℃	1 分钟		※

5. 基线和阈值设定

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

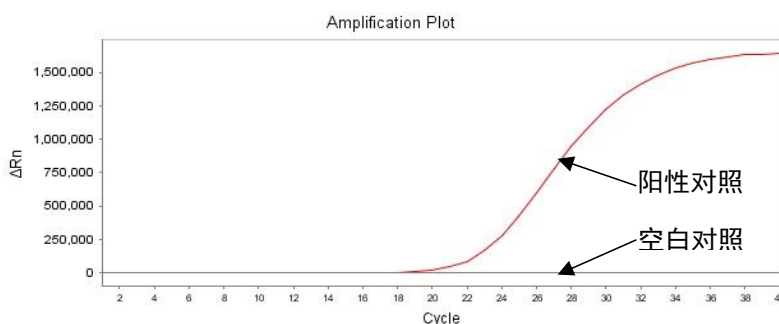
◆ 结果判定

测试样品检测 Ct 值 ≥40，曲线为直线或轻微斜线，无“S”型扩增曲线，可判定样品不含有 KMD 品系或含量低于检出限；

测试样品检测 Ct 值 ≤36，曲线呈“S”型扩增曲线，可判定样品含有 KMD 品系；

测试样品检测 Ct 值在 36~40 之间，应调整模板浓度，重做实时荧光 PCR。再次扩增后的样品检测 Ct 值 <40，则可判定样品含有 KMD 品系；再次扩增后的样品检测 Ct 值 ≥40，则可判定该样品不含有 KMD 品系或含量低于检出限。

★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