

旋达[®]R1 转基因检测系列

PAT 基因核酸检测试剂盒（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[®]R1 转基因检测系列产品可针对食品、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。本产品参照《GB/T 19495.4-2018 转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应（PCR）检测方法》和《SN/T 1204-2016 植物及其加工产品中转基因成分实时荧光 PCR 定性检验方法》标准开发，用于 PAT 基因成分的检测，**检出限为 0.01%**。

◆ 产品组成（48 测试）

041052M	
试剂	含量
A-PAT-P	1000 μL × 1 支
NG-P	100 μL × 2 支
PG-PAT-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灭菌 0.2 mL PCR 管或八联管；④离心机；⑤涡旋混匀器；⑥金属浴；⑦均质机、搅拌机或研钵等研磨器具；⑧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 0.2 mL PCR 管中。

试剂	使用量
A-PAT-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-PAT -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
	温度	时间	循环数	
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。

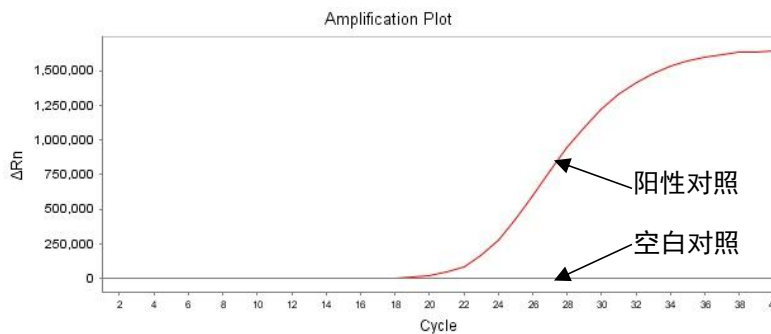
◆ 结果判定

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 PAT 基因或含量低于检出限；

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 PAT 基因；

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 PAT 基因；再次扩增后的样品检测 Ct 值 ≥ 40，则可判定该样品不含有 PAT 基因或含量低于检出限。

★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