

旋达[®]R1 转基因检测系列

转基因玉米品系 MON87403 核酸检测试剂盒（带内参，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《QT-EVE-ZM-025 Quantitative PCR method for detection of maize event MON87403 (EURL GMFF, 2018)》等标准开发，用于转基因玉米品系 MON87403 成分的检测，**检出限为 0.04%**。

◆ 产品组成（48 测试）

042292RM	
试剂	含量
A-MON87403/hmg-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-MON87403/hmg-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。
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. 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-MON87403/hmg-P。盖好 PCR 管盖后，涡旋混匀，离心 30 秒，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（MON87403）及 VIC（hmg），淬灭基团均选择 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°C	10 分钟	1 个循环	—
预变性	95°C	5 分钟	1 个循环	—
扩增	95°C	15 秒	40 个循环	—
	60°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，阈值线应超过空白对照扩增曲线的最高点。

◆ 结果判定

1、质量结果判定

空白对照：FAM 荧光通道无荧光对数增长，Ct 值 ≥ 40 ；且 VIC 荧光通道无荧光对数增长，Ct 值 ≥ 40 。

阳性对照：FAM 荧光通道有荧光对数增长，且出现典型的扩增曲线，Ct 值 ≤ 35 ；VIC 荧光通道有荧光对数增长，且出现典型的扩增曲线，Ct 值 ≤ 30 。

内参照：待测样品 VIC 荧光通道有荧光对数增长，且出现典型的扩增曲线，Ct 值 ≤ 30 。

2、检测结果判定

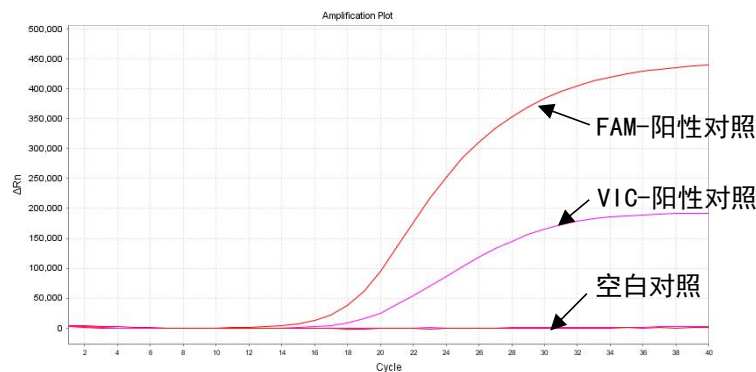
在符合质量结果判定的情况下，被检样品进行检测时：

待测样品 FAM 荧光通道 Ct 值 ≤ 36 ，VIC 荧光通道 Ct 值 ≤ 30 ，则判定为被检样品阳性，检出转基因玉米品系 MON87403 成分。

待测样品 FAM 荧光通道 Ct 值 ≥ 40 ，VIC 荧光通道 Ct 值 ≤ 30 ，则判定为被检样品阴性，未检出转基因玉米品系 MON87403 成分。

待测样品 FAM 荧光通道 $36 < \text{Ct 值} < 40$ ，应调整模板浓度，重做实时荧光 PCR。如再次扩增后 FAM 荧光通道 Ct 值仍为 < 40 ，则判定为被检样品阳性，检出转基因玉米品系 MON87403 成分。如再次扩增后 FAM 荧光通道 Ct 值 ≥ 40 ，则判定为被检样品阴性，未检出转基因玉米品系 MON87403 成分。

★ 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