

旋达[®]R1 物种鉴定系列

花生源性成分核酸检测试剂盒（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 物种鉴定系列中的过敏原鉴定试剂，可针对食品中过敏原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。本产品用于糕点、糖果、冰淇淋等食品中过敏原花生成分的检测，**检出限为 0.01%**。

◆ 产品组成（48 测试）

022022M	
试剂	含量
A-花生源-P	1000μL × 1 支
NG-P	100μL × 2 支
PG-花生源-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。

◆ 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《SN/T 1961.2-2007 食品中过敏原成分检测方法 第 2 部分：实时荧光 PCR 方法检测花生成分》或其他标准处理样品，制备的样本保存待用。

称取约 200g 样品，用洁净研钵或合适的粉碎装置将样品粉碎至粉末状用以提取 DNA。

样品的采集和制备是过敏原成分鉴别的重要步骤，为防止交叉污染，应使用一次性消耗品，研钵应经 160℃干烤 2 h，其他不宜干烤或高压处理的器皿应使用 1%次氯酸钠溶液浸泡。其它防止交叉污染的措施按照 GB/T 27403 中的规定执行。

详细步骤请按照标准操作。

◆ 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 个数量计算各组分用量（N 个待检样品+1 个空白对照 NG+1 个阳性对照 PG），涡旋混匀，离心 30 秒，分装于 0.2ml PCR 管中。

试剂	使用量
A-花生源-P	20×(N+2)μL

2.模板制备（样本制备区）

建议使用动物组织基因组 DNA 提取试剂盒等商品化试剂盒，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）

向步骤 1 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-花生源-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。

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 $^{\circ}$ C	10 分钟	1 个循环	—
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 分钟	1 个循环	—
扩增	95 $^{\circ}$ C	15 秒	40 个循环	—
	60 $^{\circ}$ C	60 秒		※

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

阳性对照正常结果：出现明显荧光增幅，Ct 值 \leq 30。 .

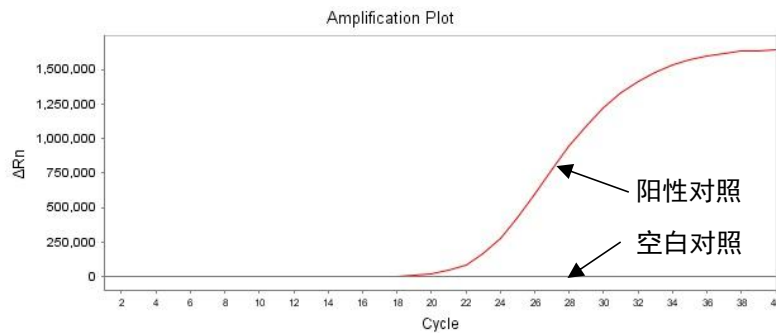
空白对照正常结果：无明显的荧光增幅。

检测样品无荧光增幅现象，并且阳性对照、空白对照结果正常者，可判定该样品中未检出过敏原花生成分。

检测样品 Ct 值 \leq 40，曲线有明显的荧光增幅现象，并且阳性对照、空白对照结果正常者，可判定该样品中检出过敏原花生成分。

检测样品 Ct 值在 40~45 之间，应重做实时荧光 PCR 反应。再次扩增后的结果 Ct 值仍在 40~45 之间，并且阳性对照、空白对照结果正常者，可判定该样品中检出过敏原花生成分，否则判定该样品中未检出过敏原花生成分。

★ 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