

旋达[®]R1 转基因检测系列

PAT 基因核酸检测试剂盒（恒温荧光法）

请于-20℃条件下保存，有效期 12 个月

◆ 产品说明

旋达[®]R1 转基因检测系列产品基于独特的恒温荧光检测技术，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，仪器实时监测扩增过程中的荧光信号变化，自动判读结果。本产品参照《SN/T 3767.2-2014 出口食品中转基因成分环介导等温扩增（LAMP）检测方法 第 2 部分：筛选方法》等标准开发，适用于 PAT 基因的检测，**检出限为 0.5%**。

◆ 产品组成（48 测试）

041051M	
试剂	含量
A-PAT-I	1200 μL × 1 支
B-I	55 μL × 1 支
C-I	1200 μL × 1 支
PG-PAT-I	50 μL × 1 支

◆ 适用仪器

Dhelix-1610、Dhelix-3210、ESE Tube Scanner、Genie II、Deaou-308c 等恒温荧光检测仪，ABI 7500、LightCycler480、CFX 96 等荧光 PCR 仪。

◆ 自备耗材和仪器

①灭菌 1.5 mL 或 2.0 mL 离心管；②灭菌 0.2 mL PCR 管或八联管；③冰盒；④移液器（0.5-10 μL，10-100 μL，100-1000 μL）及配套灭菌吸头；⑤离心机；⑥涡旋混匀器；⑦金属浴；⑧均质机、搅拌机或研钵等研磨器具；⑨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，制备的样本保存待用。

◆ 实验操作

将试剂完全解冻，各组分离心 30 秒。

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 个数量计算各组分量（N 个待检样品+1 个空白对照 NG+1 个

阳性对照 PG), 将混合液置于 0.6 mL 或者 1.5 mL 离心管中, 涡旋混匀, 离心 30 秒, 分装于 0.2 mL PCR 管中, 并向每管加入 1 滴 C-I (约 20 μ L)。

试剂	使用量
A-PAT-I	22 \times (N+2) μ L
B-I	1 \times (N+2) μ L
混合液总体积	23 \times (N+2) μ L

2. 模板制备 (样本制备区)

建议使用配套植物基因组 DNA 提取系列产品, 具体过程详见产品说明书。

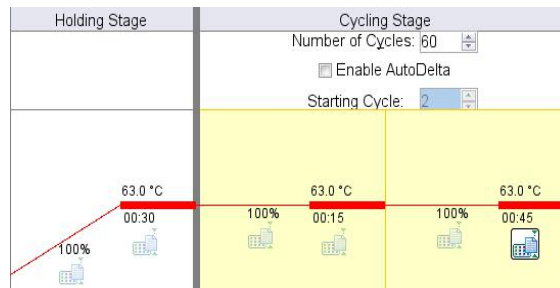
3. 添加模板 (样本制备区, 放置于冰盒中进行)

向步骤 1 中已含有混合液的 PCR 管中分别加入 2 μ L 模板, 顺序为待测样品模板、阳性对照 PG-PAT-I (空白对照管无需额外加入模板), 涡旋混匀, 离心 30 秒, 立即进行扩增反应。

4. 扩增反应 (扩增及产物分析区)

① 恒温仪器 63 $^{\circ}$ C 条件下反应 60 min。待仪器升温至 63 $^{\circ}$ C 后, 新建程序, 设置实验名称及反应时间, 将步骤 3 中离心后的 PCR 反应管放入恒温荧光分子检测仪, 点击开始检测。

② 若使用荧光定量 PCR 仪, 则荧光基团选择 FAM, 淬灭基团选择 None, 将 63 $^{\circ}$ C 15 s, 63 $^{\circ}$ C 45 s 作为一个循环, 于 63 $^{\circ}$ C 45 s 处收集荧光信号, 60 个循环。



其他仪器请参照仪器说明书进行设置。

◆ 结果判定

① 仪器自动判定结果, 若显示“阳性”, 则样品中含有 PAT 基因; 若显示“阴性”, 则样品中不含有 PAT 基因或含量低于检测限。

② 在荧光定量 PCR 仪上, 根据有无“S”型扩增曲线判定结果。若有“S”型扩增曲线, 则样品中含有 PAT 基因; 若无“S”型扩增曲线, 则样品中不含有 PAT 基因或含量低于检测限。

★ NG 反应管结果显示“阴性”, PG 反应管结果显示“阳性”, 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。

◆ 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