

## 旋达<sup>®</sup>R1 物种鉴定系列

胡萝卜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<sup>®</sup>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。本产品用于食品及其原料中过敏原胡萝卜成分的检测，**检出限为 0.01%**。

### ◆ 产品组成（48 测试）

| 022172M   |              |
|-----------|--------------|
| 试剂        | 含量           |
| A-胡萝卜源-P  | 1000μL × 1 支 |
| NG-P      | 100μL × 2 支  |
| PG-胡萝卜源-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 1961.7-2013 出口食品过敏原成分检测 第 7 部分：实时荧光 PCR 方法检测胡萝卜成分》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-胡萝卜源-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）

建议使用植物基因组提取试剂盒或深加工食品 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 5μL 模板，顺序为 NG、待测样品模板、PG-胡萝卜源-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°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   | 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。

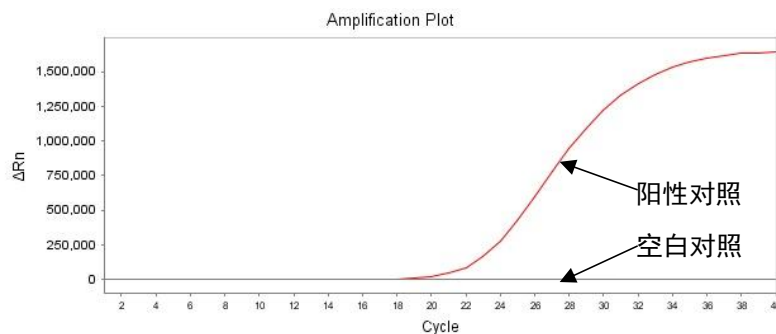
◆ 结果判定

检测样品 Ct 值 ≤35，则判定为被检样品阳性，检出过敏原胡萝卜成分。

检测样品 Ct 值 ≥40，则判定为被检样品阴性，未检出过敏原胡萝卜成分。

检测样品 35 < Ct 值 < 40，则重复一次。如再次扩增后 Ct 值仍为 < 40，则判定为被检样品阳性，检出过敏原胡萝卜成分。如再次扩增后 Ct 值 ≥40，则判定为被检样品阴性，未检出过敏原胡萝卜成分。

★ 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