

旋达[®]R1 物种鉴定系列

猪皮成分核酸检测试剂盒（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物种鉴定系列可针对燕窝及常见掺杂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。本产品参考《SN/T3033-2018 出口燕窝的分子生物学真伪鉴别方法 实时荧光 PCR 法和双向电泳法》标准开发，用于燕窝中掺杂成分猪皮的检测。

◆ 产品组成（48 测试）

021572M	
试剂	含量
A-猪皮/内参-P	20μL × 8 管 × 6 排
NG-P	100μL × 2 支
PG-猪皮/内参-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

参考《SN/T3033-2018 出口燕窝的分子生物学真伪鉴别方法 实时荧光 PCR 法和双向电泳法》标准进行，具体步骤如下：

对于干燕窝，取送检样品 1g~2g，用研钵或粉碎装置粉碎至粉末状，充分混匀，分成三份，分别为测试样品、复检样品和保存样品，并装入离心管或密封袋中，加封后，标明标记，样品制备应小心操作确保防止任何的污染和样品组分的改变。对于燕窝饮品，将送检样品充分混匀，分装于 40 mL 或 50 mL 离心管中，15000 g 离心 5 min，去除上清，重复 3 次~5 次，以洗净糖分。将固形物冷冻干燥或烘干（不超过 65℃），粉碎混匀，分成三份（每份>200 mg），分别为测试样品、复检样品和保存样品，装入离心管或密封袋中，加封后，标明标记。

◆ 实验操作

1. 模板制备（样本制备区）

建议使用深加工食品 DNA 提取试剂盒等商品化试剂盒，参照《SN/T3033-2018 出口燕窝的分子生物学真伪鉴别方法 实时荧光 PCR 法和双向电泳法》标准进行，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-猪皮/内参-P。盖好 PCR 管盖后，涡旋混匀 30s，离心 1min，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（猪皮）及 VIC（内参照），淬灭基团选择 MGB（猪皮）及 NONE（内参照）。

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		※

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 ≥ 30 。

阳性对照：FAM 荧光通道及 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

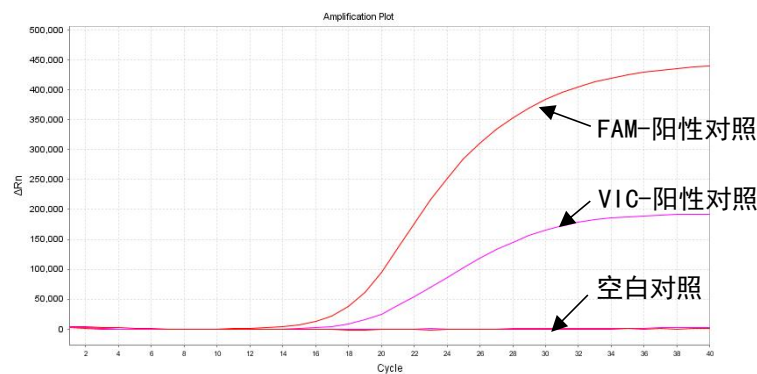
在符合质量结果判定的情况下，被检样品进行检测时：

待测样品 FAM 荧光通道 Ct 值 ≤ 35 ，则判定为被检样品阳性，检出猪皮成分。

待测样品 FAM 荧光通道 Ct 值 ≥ 40 ，则判定为被检样品阴性，未检出猪皮成分。

待测样品 FAM 荧光通道 $35 < \text{Ct 值} < 40$ ，则重复一次。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，检出猪皮成分。如再次扩增后 FAM 荧光通道 Ct 值 ≥ 40 ，则判定为被检样品阴性，未检出猪皮成分。

★ 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