

# 藕粉源性成分探针法 qPCR 试剂盒

Nelumbo nucifera -Ingredient Probe PCR Kit

目录号: [ml107564](#)

## 使 用 说 明 书

### 产品及特点

本试剂盒可用于检测食品或其他材料中是否有藕粉的成分。现代食品加工工艺极大改变了食材原有的味道、气味、色泽、纹理和质地等特性，因此传统的感官鉴别技术已经无法对食材的真伪进行准确的鉴定。同时部分食材还有致敏性，因此基于基因检测的、快速灵敏的食材来源检测技术将对食品监管和安全提供重要的保障。此外还有很多情况需要检测非食品样本中是否有藕粉源性成分。本产品就是为满足这些需求根据 PCR 原理开发的产品，它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。
2. 引物和探针经过优化，灵敏度高，检测限可达 100 拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据藕粉基因组 DNA 高度保守区设计，不会跟其它生物的 DNA 发生交叉反

应。

5. 既可定性检测，又可定量检测。定量检测时，线性范围至少 5 个数量级。

6. 本产品足够 50 次 20  $\mu$ L 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。

7. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

| 成分                                                                     | 规格          | 包装        |
|------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------|
| 2×Probe qPCR MasterMix                                                 | 500 $\mu$ L | 0.5mL 本色管 |
| 荧光 PCR 专用模板稀释液                                                         | 1mL         | 1.5mL 绿盖管 |
| 超纯水                                                                    | 1mL         | 1.5mL 蓝盖管 |
| 藕粉源性成分 qPCR 引物-探针干粉                                                    | 50 次        | 0.5mL 棕色管 |
| 藕粉源性成分阳性对照(1E7 拷贝/ $\mu$ L)                                            | 50 $\mu$ L  | 0.5mL 黄盖管 |
| 使用手册                                                                   | 1 份         | 无         |
| 本产品采用五孔盒包装                                                             |             |           |
| <b>注意：</b> 引物-探针干粉在使用前需要离心，然后在离心管中加入 165 mL 的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。 |             |           |

## 使用方法

### 一、稀释标准曲线样品（以 10E1-10E6 拷贝/ $\mu$ L 这 6 个 10 倍稀释度为例）。

由于标准品浓度非常高，因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行，千万不能

污染样品或本试剂盒的其他成分。本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供 DNA 片段作为阳性对照。

1. 标记 6 个离心管，分别为 6、5、4、3、2、1。

2. 用带芯枪头分别加入 45  $\mu$ L 荧光 PCR 专用模板稀释液，好用带芯枪头（下同）。

3. 在 6 号管中加入 5  $\mu$ L 1E7 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡混匀 1 分钟，得到 1E6 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

4. 换枪头, 在 5 号管中加入 5  $\mu$ L 1E6 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡混匀 1 分钟, 得到 1E5 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

5. 换枪头, 在 4 号管中加入 5  $\mu$ L 1E5 拷贝/ $\mu$ L 的阳性对照(上步所得), 充分震荡混匀 1 分钟, 得到 1E4 拷贝/ $\mu$ L 的标准曲线样品。放冰上待用。

6. 依次重复上面的操作得到 6 个稀释度的标准曲线样品。放冰上待用。

## 二、样品 DNA 的制备

7. 如果有 N 个样品, 好设置 N+2 个提取, 多出的一个是 PC (样品制备阳性对照), 一个是 NC (样品制备阴性对照)。可以用 10  $\mu$ L 上步所得 4 号稀释液再加上一定量的水使总体积跟每次制备要求的体积一样, 以此作为 PC。另外用水作为 NC。

8. 用自选方法纯化样品的 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的免提取核酸释放剂。

## 三、qPCR 反应 (20 $\mu$ L 体系, 在样品制备室进行)

9. 如果做定量分析并且只做 1 次重复, 则标记 N+9 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品, 1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板), 6 个用于标准曲线。如果做定性分析并且只做 1 次重复, 则标记 N+4 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品, 1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板), 1 个用于 PCR 阳性对照 (直接用第 6 步第 4 号管的阳性对照稀释液做模板)。下面只以定量分析为例描述操作步骤。

10. 在标记管中按下表加入各成分 (本表只列出一次重复。样品管和阴性对照设

置完毕后才设置阳性对照, 并且阳性对照样品要等所有管子盖上盖子储存好后加) :

| 成分                     | 样品管 N+2 个    | PCR 阴性对照   | 标准曲线样品管(1-6 管) |
|------------------------|--------------|------------|----------------|
| 2×Probe qPCR MasterMix | 各 10 $\mu$ L | 10 $\mu$ L | 各 10 $\mu$ L   |
| 藕粉源性成分 qPCR 引物-探针混合液   | 各 3 $\mu$ L  | 3 $\mu$ L  | 各 3 $\mu$ L    |

|                                                                                                                                                          |                                                                                                                                   |       |                                 |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---------------------------------|-------|
|                                                                                                                                                          | N+2 个待测 DNA 样本                                                                                                                    | 各 7μL | 不加                              | 不加    |
|                                                                                                                                                          | 超纯水                                                                                                                               | 不加    | 7μL                             | 不加    |
|                                                                                                                                                          | 第 6 步所得标准曲线样品稀释液（1-6 号）                                                                                                           | 不加    | 不加                              | 各 7μL |
|                                                                                                                                                          | 11. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 PCR：                                                                                                          |       |                                 |       |
|                                                                                                                                                          | 过程                                                                                                                                | 温度    | 时间                              |       |
|                                                                                                                                                          | 预变性                                                                                                                               | 95℃   | 10min                           |       |
|                                                                                                                                                          | PCR 反应<br><br>(40 个循环)                                                                                                            | 95℃   | 15sec                           |       |
|                                                                                                                                                          |                                                                                                                                   | 60℃   | 1min(采集 FAM 通道荧光信号,淬灭基团为 TAMRA) |       |
|                                                                                                                                                          | 四、数据处理                                                                                                                            |       |                                 |       |
|                                                                                                                                                          | 12. 如果扩增阳性对照或制备阳性对照结果为阴性，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要重做扩增或制备或跟厂家联系。如果扩增阴性对照或制备阴性对照结果为阳性，说明环境污染，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系，购买新的引物和探针。 |       |                                 |       |
| 13. 如果阴性对照和阳性对照正常，则实验有效，可以进入后续分析。                                                                                                                        |                                                                                                                                   |       |                                 |       |
| 14. 如果把本试剂盒用于定量检测，则以阳性对照浓度的 log 值为横轴，以 Ct 值为纵轴，绘制标准曲线。再以待测样品的 Ct 值从标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值，再推算出其浓度。                                                     |                                                                                                                                   |       |                                 |       |
| 15. 如果把本试剂盒用于定性检测,只判断阳性或阴性,则阴性对照必须无 Ct 或 Ct 大于或等于 40。阳性对照必须有荧光对数增长，有典型扩增曲线，Ct 值应该小于 40，否则实验无效。如果实验有效，则分析待测样品，如果无 Ct 或 Ct 大于或等于 40，则为阴性。如果 Ct 小于 40 则为阳性。 |                                                                                                                                   |       |                                 |       |
| 自备试剂                                                                                                                                                     | 超纯水，样品 DNA。                                                                                                                       |       |                                 |       |
| 运输及保存                                                                                                                                                    | 低温运输，-20℃保存，有效期 2 年。                                                                                                              |       |                                 |       |

