



# 芹菜源性成分探针法 qPCR 试剂盒

*Apium graveolens*-Ingredient Probe PCR Kit

仅

供

科

研

使

用

| 产品及特点                                                                   | <p>本试剂盒可用于检测食品或其他材料中是否有芹菜的成分。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芹菜源性成分。本产品就是为满足这些需求根据 PCR 原理开发的产品，<b>它具有下列特点：</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。</li><li>2. 引物和探针经过优化，灵敏度高，检测限可达 100 拷贝/反应。</li><li>3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。</li><li>4. 特异性高，引物是根据芹菜基因组 DNA 高度保守区设计，不会跟其它生物的 DNA 发生交叉反应。</li><li>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。</li><li>6. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。</li><li>7. 本产品只能用于科研。</li></ol>                        |           |  |    |    |    |                        |       |           |                |     |           |     |     |           |                     |      |           |                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                         |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--|----|----|----|------------------------|-------|-----------|----------------|-----|-----------|-----|-----|-----------|---------------------|------|-----------|-----------------------|------|-----------|------|-----|---|------------|--|--|-------------------------------------------------------------------------|--|--|
| 规格及成分                                                                   | <table><tr><th>成分</th><th>规格</th><th>包装</th></tr><tr><td>2×Probe qPCR MasterMix</td><td>0.5mL</td><td>0.5mL 本色管</td></tr><tr><td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td><td>1mL</td><td>1.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>1mL</td><td>1.5mL 蓝盖管</td></tr><tr><td>芹菜源性成分 qPCR 引物-探针干粉</td><td>50 次</td><td>0.5mL 棕色管</td></tr><tr><td>芹菜源性成分阳性对照(1E7 拷贝/μL)</td><td>50μL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>1 份</td><td>无</td></tr><tr><td colspan="3">本产品采用五孔盒包装</td></tr><tr><td colspan="3"><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。</td></tr></table> |           |  | 成分 | 规格 | 包装 | 2×Probe qPCR MasterMix | 0.5mL | 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 | 芹菜源性成分 qPCR 引物-探针干粉 | 50 次 | 0.5mL 棕色管 | 芹菜源性成分阳性对照(1E7 拷贝/μL) | 50μL | 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。 |  |  |
| 成分                                                                      | 规格                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 包装        |  |    |    |    |                        |       |           |                |     |           |     |     |           |                     |      |           |                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                         |  |  |
| 2×Probe qPCR MasterMix                                                  | 0.5mL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 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 |  |    |    |    |                        |       |           |                |     |           |     |     |           |                     |      |           |                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                         |  |  |
| 芹菜源性成分 qPCR 引物-探针干粉                                                     | 50 次                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 0.5mL 棕色管 |  |    |    |    |                        |       |           |                |     |           |     |     |           |                     |      |           |                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                         |  |  |
| 芹菜源性成分阳性对照(1E7 拷贝/μL)                                                   | 50μL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 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                                                                    | <p><b>一、稀释标准曲线样品 (以 1E1-1E6 拷贝/μL 这 6 个 10 倍稀释度为例)。</b></p> <p>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。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |           |  |    |    |    |                        |       |           |                |     |           |     |     |           |                     |      |           |                       |      |           |      |     |   |            |  |  |                                                                         |  |  |

- 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  $\mu\text{L}$  荧光 PCR 专用模板稀释液，用带芯枪头（下同）。
- 3. 在 6 号管中加入 5  $\mu\text{L}$  1E7 拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(试剂盒提供)，充分震荡混匀 1 分钟，得到 1E6 拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
- 4. 换枪头，在 5 号管中加入 5  $\mu\text{L}$  1E6 拷贝/ $\mu\text{L}$  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/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
- 5. 换枪头，在 4 号管中加入 5  $\mu\text{L}$  1E5 拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(上步所得)，充分震荡混匀 1 分钟，得到 1E4 拷贝/ $\mu\text{L}$  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，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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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<br>N+2 个 | PCR<br>阴性对照 | 标准曲线样品管<br>(1-6 管) |
|----|--------------|-------------|--------------------|
|----|--------------|-------------|--------------------|

|                         |        |      |        |
|-------------------------|--------|------|--------|
| 2×Probe qPCR MasterMix  | 各 10μL | 10μL | 各 10μL |
| 芹菜源性成分 qPCR 引物-探针混合液    | 各 3μL  | 3μL  | 各 3μL  |
| 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>(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。

|        |           |
|--------|-----------|
| PCR 编号 | TW-E10471 |
| 说明书    | 1 份       |

|              |                      |
|--------------|----------------------|
| <b>自备试剂</b>  | 超纯水，样品 DNA。          |
| <b>运输及保存</b> | 低温运输，-20℃保存，有效期 2 年。 |

**生产企业：上海通蔚实业有限公司**

**公司地址：上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603**

**公司电话：021-54845833**

**技术支持：15800441009**