

试剂盒组分:

规 格	100T
Lyophilized TaqMan PCR Reagent	1 瓶
2×TaqMan PCR Buffer5	1 ml
CaMV35S/TNOS TaqMan PCR Assay	2 支
阳性标准基因组	20 μl

试剂盒性能说明:

1. 本产品为转基因植物定性检测试剂盒, 即可判断样品中是否含有转基因成分, 在同一管中检测 CaMV35S 启动子和 NOS 终止子。

2. 靶标基因及探针: 试剂盒采用三通道荧光探针设计。

FAM 通道	CaMV35S 启动子
HEX 通道	NOS 终止子
ROX 通道	植物内源内参用于监控 DNA 提取和扩增反应

3. 样品要求: 提取的核酸样品浓度 $\geq 10\text{ng}/\mu\text{l}$ 。

检测样品

农作物植株、米粉、面粉、豆制品、米制品、婴幼儿辅食、罐头食品、薯类和膨化食品、植食性饲料等。

使用方法:

1. TaqMan PCR Reagent 为冻干品形式, 内含热启动 Fast Taq DNA 聚合酶、dNTP 等, 在未溶解前, 该制品可 -20℃ 长期保存, 并可室温运输, 性能无下降。使用前每瓶用 1ml 的 2×TaqMan PCR Buffer5 溶解后, 可立即使用, 剩余试剂可在 -20℃ 保存 1 个月, 在 -60℃ 以下长期保存。

2. CaMV35S/TNOS TaqMan PCR Assay 为干粉形式(含引物和探针), 每支可完成 50 次检测。该制品可 -20℃ 长期保存, 并可室温运输, 性能无下降。使用前每支用 250 μl 的 ddH₂O 溶解后, 可立即使用, 剩余试剂可在 -20℃ 保存 1 个月, 在 -60℃ 以下长期保存。

3. 按照如下组分配制 PCR 反应体系:

溶解后的 TaqMan PCR Reagent	10 μl
溶解后的 CaMV35S/TNOS TaqMan PCR Assay	5 μl
提取的核酸 DNA 样品	1~5 μl
ddH ₂ O 加入到至总体积为	20 μl

每个反应基因组 DNA 的参考用量为 50~150ng (100ng 为最佳), 过量或过低的样品浓度, 可能会导致检测结果有偏移。

4. 进行 Real-Time PCR 扩增 (FAM/HEX/ROX 信号), 程序如下:

Stage 1:	95℃	30 s
Stage 2:	95℃	10 s
	50℃	10s
	60℃	30 s (收集信号) 35 循环

5. 结果判读

5.1 实验成立条件

(1). 随盒提供的阳性标准基因组

内源内参 (ROX 信号) 的扩增 Ct 通常在 14-18 之间。

CaMV35S 启动子 (FAM 信号) 的扩增 Ct 通常在 22-28 之间。

NOS 终止子 (JOE 信号) 的扩增 Ct 通常在 22-28 之间。

(2). 阴性水对照的扩增无 Ct

(3). 测试样品

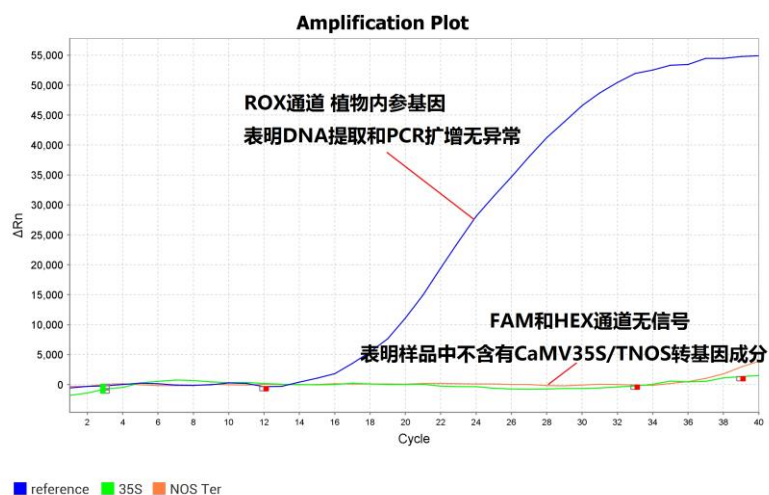
内源内参 (ROX 信号) 的扩增 Ct < 25。若测试样品内源内参扩增 Ct > 25, 表明基因组 DNA 样品浓度不高或质量不佳, 检测结果可能不准确, 需重新制备核酸样品再检。

5.2 判定标准

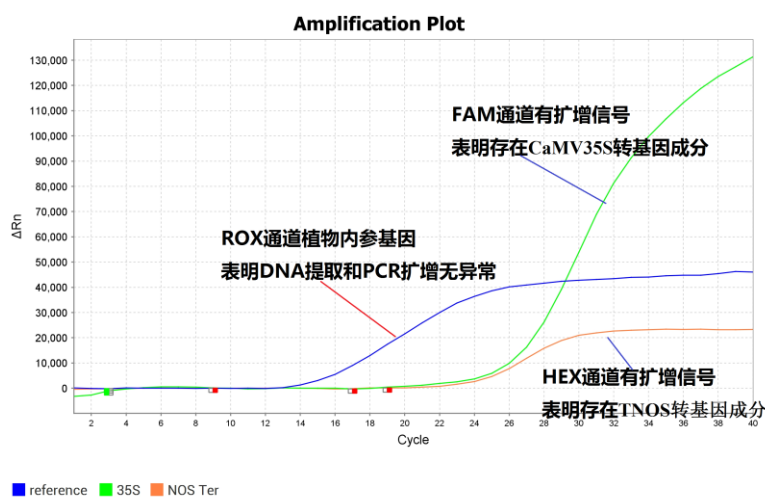
(1) 阳性: FAM 信号或 HEX 信号扩增曲线明显, 表明样品中含有转基因成分。

(2) 阴性: FAM 信号及 HEX 信号均无 Ct (平线), 表明样品中不含 CaMV35S/TNOS 转基因成分。

实验实例 1: 典型的 CaMV35S/TNOS 阴性转基因样品扩增图片



实验实例 2: 典型的阳性转基因样品



实验实例 3 典型的扩增失败样品 (需要重新制备 DNA)

