

GM0 玉米 Bt11 品系探针法 qPCR 试剂盒

CAT#: BN62687

低温运输, -20℃保存

产品及特点	转基因玉米 (<i>Zea mays</i>) Bt11 品系兼具抗虫害及耐除草剂两种特性，其导入的抗虫基因是苏云金杆菌 (<i>Bacillus thuringiensis</i>, Bt) 杀虫结晶蛋白基因 cry1A(b)，导入的耐除草剂基因为草丁膦乙酰转移酶基因。截止 2018 年耐除草剂和抗虫性转基因玉米 Bt11 品系已在 25 个国家/地区及欧盟 28 国获得了 54 个批文，因此快速灵敏检测该品系具有重要的意义。本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测转基因玉米 Bt11 品系的试剂盒，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，分析灵敏性高，可以达到 100 拷贝/μL。 3. 提供阳性对照和内参，便于排除假阴性结果。 4. 特异性高，引物是根据玉米 Bt11 品系特异的区域设计，不会跟转基因玉米的其它品系发生交叉反应。 5. 既可用于定性检测，又可用于定量检测。用于定量检测时线性范围至少为 5 个数量级。 6. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 PCR 反应。 7. 本产品只能用于科研。																				
规格及成分	本产品使用五孔盒包装 <table><tr><th>成分</th><th>编号</th><th>规格</th></tr><tr><td>2×Probe PCR MagicMix</td><td>60001</td><td>0.5 mL</td></tr><tr><td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td><td>60002</td><td>1 mL</td></tr><tr><td>玉米 Bt11 品系探针法 qPCR 引物-探针混合液</td><td>62687-4</td><td>150 μL</td></tr><tr><td>玉米 Bt11 品系 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)</td><td>62687-5</td><td>50 μL</td></tr><tr><td>使用手册</td><td></td><td>1 份</td></tr></table>			成分	编号	规格	2×Probe PCR MagicMix	60001	0.5 mL	荧光 PCR 专用模板稀释液	60002	1 mL	玉米 Bt11 品系探针法 qPCR 引物-探针混合液	62687-4	150 μL	玉米 Bt11 品系 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)	62687-5	50 μL	使用手册		1 份
成分	编号	规格																			
2×Probe PCR MagicMix	60001	0.5 mL																			
荧光 PCR 专用模板稀释液	60002	1 mL																			
玉米 Bt11 品系探针法 qPCR 引物-探针混合液	62687-4	150 μL																			
玉米 Bt11 品系 PCR 阳性对照 (1×10E7 拷贝/μL)	62687-5	50 μL																			
使用手册		1 份																			
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。																				
自备试剂	样品 DNA。																				

本产品仅用于科研

TEL: 010-62960866 www.biorigin.Ltd

使用方法

一、稀释含内参的标准曲线样品(以阳性对照 $10E1-10E6$ 拷贝/ μL 这 6 个 10 倍稀释度和内参固定在 $10E3$ 拷贝/ μL 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)。

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 (最好用带芯枪头, 下同)。
3. 在 6 号管中加入 $5 \mu L 1 \times 10E7$ 拷贝/ μL 的阳性对照 (试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得 $1 \times 10E6$ 拷贝/ μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
4. 换枪头, 在 5 号管中加入 $5 \mu L 1 \times 10E6$ 拷贝/ μL 的阳性对照 (上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 $1 \times 10E5$ 拷贝/ μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
5. 换枪头, 在 4 号管中加入 $5 \mu L 1 \times 10E5$ 拷贝/ μL 的阳性对照 (上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得 $1 \times 10E4$ 拷贝/ μL 的标准曲线样品。放冰上待用。
6. 重复上面的操作直到得到 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, 最好设置 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核酸纯化试剂盒所要求的样本起始体积一样, 以此作为 PC。另外用水作为 NC。
8. 用自选方法纯化样品的 DNA (含内参), 本试剂盒跟市场上大多数 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、Probe 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):

成分	样品管 N+2 个	PCR 阴性对照	标准曲线样品管 (1-6 管)
$2 \times$ Probe qPCR MagicMix	各 $10 \mu L$	$10 \mu L$	各 $10 \mu L$
玉米 Bt11 品系探针法 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 (含内参)	各 7 μ L	不加	不加
超纯水	不加	7 μ L	不加
第 6 步所得标准曲线样品稀释液 (含内参, 1-6 号)	不加	不加	各 7 μ L (2 号样到 2 号管, 3 号样到 3 号管...)

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°C	3 min
PCR 反应 (40 个循环)	95°C	10 sec
	58°C	5 sec
	60°C	5 sec
	72°C	30 sec (采集 FAM 通道的荧光信号, 淬灭基团均为 TAMRA)

四、数据处理

12. 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 RNA 浓度的 log 值, 再推算出其浓度。
13. 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 Ct 必须大于或等于 40。阳性对照必须有荧光对数增长, 有典型扩增曲线, Ct 值应该小于或等于 30。对待测样品, 如果其 Ct 大于或等于 40 则为阴性, 如果小于或等于 35 则为阳性。如果在 35-40 之间, 则重复一次。重复实验的 Ct 值如果大于或等于 40 则为阴性, 如果小于 35, 则为阳性。

关联产品

转基因玉米 Bt11 品系可视化 LAMP 检测试剂盒