

罗伊氏乳杆菌核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)

使用说明书

(使用前请仔细阅读本说明书)

【产品名称】

通用名称: 罗伊氏乳杆菌核酸检测试剂盒
(PCR-荧光探针法)

英文名称: PCR Detection Kit for
Lactobacillus reuteri (Fluorescent Probe Assays)

【包装规格】 48 测试/盒

【产品编号】 FZ033BF2

【产品简介】

本试剂盒仅适用于食品中纯培养的罗伊氏乳杆菌的定性检测,其他试验需另按照国标《GB 4789.35-2023 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》开展。

【检测原理】

基于 Real Time PCR 技术,参考 GB 4789.35-2023 标准,利用针对于罗伊氏乳杆菌 *recA* 基因的引物、荧光探针以及其他反应所需试剂,加入待检样品即可进行扩增反应。在发生扩增过程中,荧光探针与目的基因片段结合,可被 Taq 酶分解并产生荧光信号,此时荧光定量 PCR 仪可识别该荧光信号,同时根据其强弱变化绘制出相应的实时扩增曲线,进而判定罗伊氏乳杆菌是否检出。

【产品组分】

组分名称	规格×数量
裂解液	1 mL×2 管
阳性对照	200 μL×1 管
阴性对照	200 μL×1 管
预混液	1 mL×1 管
说明书	1 份

【储存条件与保质期】

-20℃避光储存,有效期为 12 个月,避免反复冻融。

【灵敏度】

最低检验限达到 10~100 copies/μL DNA。

【所需其他材料和适用仪器】

荧光定量 PCR 仪(具有能够检测 FAM 标记的荧光通道)、高速离心机、移液器、移液枪头及离心管等。

【使用指南】

1. 可疑菌落模板 DNA 的制备

- a) 挑取 MC 或者 MRS 琼脂平板上的可疑菌落,充分悬浮 200 μL 生理盐水中,12000 r/min 离心 3 min,弃上清,往沉淀加入 30 μL 裂解液或者标准中的 DNA 提取液,充分悬浮管底沉淀,轻弹管壁消除气泡,金属浴或者水浴 100℃加热 10 min,迅速冷却。
- b) 12000 r/min 离心 5 min,上清即为待测样品 DNA,静置冰上,长时间不用应再次离心。 -20℃保存。

注:菌量过高会降低 DNA 粗提效率,建议待处理菌液菌量控制在 10⁵ cfu 以下为宜;100℃加热前,可将样品置于液氮与热水中反复冻融 5~6 次,以提升 DNA 提取效果。实验室也可根据实际情况,选用商品化 DNA 提取试剂盒进行提取。

2. 加样、反应

- 1) 按照需求取 n 个 PCR 反应管 (n=1 管阴性对照+待检测样品数+1 管阳性对照),从试剂盒中取出预混液,充分融化,涡旋后短暂离心,以上每管加入 20 μL 预混液,待用。
- 2) 向上述 n 个反应管中分别加入阴性对照、待测样品 DNA、阳性对照各 5 μL,总反应体积为 25 μL。盖紧管盖,短暂离心,立即进行 PCR 扩增反应。
- 3) PCR 反应体系为 25 μL,取 FAM 检测通道,在反应阶段 2 中 60℃时收集荧光信号,具体程序如下:

反应阶段	温度	时间	信号收集	循环数
1	94℃	1 min		1
2	95℃	10 sec	√	40
	60℃	30 sec		

注:在反应阶段 2 中 60℃时收集荧光信号,对于多通道荧光 PCR 仪,取“FAM”为信号采集通道,淬灭基团选择“None”,染料校正选择“None”。

3. 结果

一般情况下,可通过软件自动设定的基线、阈值等直接读取检测结果。如需调整,可根据所使用仪器的自身情况(如噪声等)以及选取的不同荧光通道进行调整。

1) 质量控制:

阴性对照未出现明显的 S 型扩增曲线或 Ct 值 >40, 阳性对照出现 S 型扩增曲线且其 Ct 值 <30。若阴阳性对照不同时满足上述条件,则本次检测结果无效,应重新检测或与产品技术支持联系。

2) 结果判读:

根据反应所得 Ct 值判读,具体见下表:

Ct 值	每个基因判读结果
≤35	对应的基因阳性。
35~40	建议重新检测,若复测结果 Ct≥40,则对应的基因阴性,反之为阳性。
≥40	对应的基因阴性。

【注意事项】

1. 实验环境条件和过程控制应参照 GB/T 27403《实验室质量控制规范食品分子生物学检测》规定执行。
2. 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文,检测过程中建议穿洁净工作服,戴一次性手套,使用的移液枪头需提前灭菌。
3. 试剂盒中试剂使用前需充分融化、混匀,短暂离心后使用,期间需尽量避免产生气泡,加样完毕后检查反应管是否盖紧,避免泄露造成污染。
4. 待检测样品基因变异可能会造成假阴性结果;待检测样品交叉污染、实验室环境污染以及试剂污染均会造成假阳性结果。
5. 不同批号的产品请勿混合使用,请在产品有效期内使用试剂盒,由于操作不当引起的误判,以及由此误判引发的其他事项,本公司概不负责。
6. 检测完毕后,根据相关规定正确处理废弃耗材以及扩增产物。
7. 仅限科研目的使用,本试剂盒检测结果可作为食品中相关菌种定性检测的科研参考依据。

【生产企业】

企业名称: 广东环凯生物科技有限公司
 生产地址: 广东省肇庆市高新区科技大街中 13 号
 邮政编码: 526238
 技术热线: 0758-3680999-8018
 企业网址: <http://www.bhkbio.com>

【说明书修改时间】

2026 年 01 月 15 日

