

# GMO DETECT

## PAT/BAR 金标免疫快速检测试剂盒 Phosphinothricin-N-acetyltransferase/bar Rapid Test 使用说明书

### 一步法快速检测转基因植物样本中 PAT/BAR 蛋白

样品：种子/根/茎/叶  
编号：AG-002-SLF

#### 试剂盒用途

PAT/BAR 金标免疫快速检测试剂盒主要用于快速、定性检测植物样本中是否含特异性抗除草剂转基因 PAT/BAR 蛋白。本产品检测灵敏度为 1ng/ml 蛋白标准品。

- 转基因蛋白PAT/BAR 在植物中的表达，可提高植物对除草剂的抵抗力，该检测结果可为转基因植株的质量评定提供依据。有经验的研究人员可根据检测线的显色深浅，定性或半定量地确定 PAT/BAR 蛋白的表达程度。
- 为判定待检测样本是否含转基因植物样本（转 PAT/BAR 蛋白基因）提供直接证据。适用于边防、海关植物检验、食品安全检测等部门对可疑样本现场快速筛查。阳性结果说明待检样本中含 PAT/BAR 蛋白，提示检测样本中含转基因植物产品。
- 本产品主要适用于检测棉花及水稻、大豆、玉米、油菜等植物的种子、叶子、根茎等及其加工产品。



#### 检测原理

本产品采用胶体金标记免疫层析技术，一步法快速检测植物样本中存在的转基因 PAT/BAR 蛋白。产品利用双抗体夹心原理，将针对 PAT/BAR 蛋白的特异性单克隆抗体包被在硝酸纤维素膜上，将针对该抗原的另一特异性单克隆抗体与胶体金偶联，制备成胶体金垫，并组装成试纸条。当在样品垫上加入待检测样品时，样本溶解样本垫上的单抗-胶体金复合物，并在毛细虹吸作用下沿试纸条作侧向爬行。如果检测样本中含有 PAT/BAR 蛋白，该蛋白会与胶体金偶联的单克隆抗体特异结合，形成抗原-抗体-胶体金复合物，爬行至检测窗口区，被包被在检测线区域（T 线）的单克隆抗体捕获，在检测线的位置沉积形成肉眼可见的红色或紫红色检测条带，显示为阳性结果；多余的抗体-胶体金复合物继续爬行至质控区域（C 线），被包被在该区域的羊抗鼠多克隆抗体捕获，形成紫红色质控带。作为试剂的内部质控，不管样本中是否含有靶蛋白，检测窗口始终可见质控带，提示检测试剂和检测过程的有效性。

#### 试剂盒组成

- PAT/BAR 检测试剂条（50 条/筒，2 筒/盒）
- 100 个塑料转移吸管
- 100 个反应管
- 使用说明书 1 份

#### 检测可能需要但试剂盒未提供的设备和材料

- 微量加样器
- 量筒
- 天平（0—500 mg）
- 剪刀
- 研磨设备如匀浆器等
- 微量离心管或其他样品采集管
- 样品抽提袋
- 离心机
- PAT/BAR 蛋白阳性标准品
- 纯净水

#### 存储和稳定性

- 2-30°C 保存（切勿冻存），应避光、防湿、防热。
- 有效期为 24 个月。

#### 安全性

检测试剂对人体无毒无害。

#### 检测样本处理及准备

植物种子、叶子、籽苗等样本在检测前需经研磨，并按一定比例加入纯水稀释。为获得最佳检测效果，不同样

品请根据下表中的比例稀释，未列出的植物种类也请参照下表做适当稀释。在完成研磨和稀释后，将样本混匀，静置或离心，取上清液作为检测样本。待检测样本如未能及时检测，可放入4℃保存1个月左右。若需要长时间保存，请及时放置-20℃。检测样本不宜反复冻融。

植物种类	叶子及籽苗	种子
	叶子/纯水 (g/ml)	种子/纯水 (g/ml)
玉米	1:10	1:4
水稻	1:20	1:4
棉花	1:10	1:10
大豆	1:10	1:4

### 1. 植物叶子样本的处理

对植物叶子样本，可使用叶片专用处样品抽提袋，或使用其它适宜的洁净研磨装置研磨粉碎。

#### 同一植株的叶片

如使用叶片专用处理袋，每一植株叶片单独使用一样本处理袋，标记编号。

在样本处理袋中加入3ml纯水。

根据上表比例，取0.15g玉米叶片（或0.3g棉花叶片）放入样本处理袋，用力挤压将叶子完全磨碎，静置或离心，取上清液作为检测样本。

#### 不同植株的叶片

在每一植株叶片上取同样大小的代表性小片（用打孔器取叶片中央部分）。将各小片称量，共重约0.2–0.4g（叶片的重量因不同植物种类、年龄、生长条件有一定变化），放入样本处理袋中，按上表比例加入适量纯水，充分研磨至叶片磨碎，混匀，静置或离心，取上清液作为检测样本。

### 2. 植物种子样本的处理

#### 同一植株种子样本

用粉碎机或其它适宜器械将种子磨碎至粉末。称取0.5g–2g，放入带盖离心管或其它容器中，按上表比例加入纯水，振摇抽提2–5分钟，静置或离心，取上清液作为检测样本。

#### 多植株混合种子样本

按随机取样法则，取200g样本，粉碎至粉末。称取20g–50g，放入500ml烧瓶或其它容器中，按上表比例加入纯水，振摇抽提2–5分钟，静置或离心，取上清液作为检测样本。

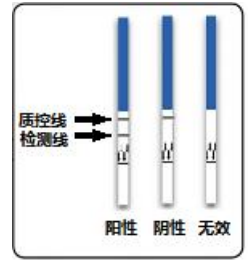
### 样本检测

- 使用前将试剂盒恢复至室温（15–30℃）。
- 从原包装中取出检测条，有箭头标记端为样品端。（检测条取出后，应在1小时内使用，特别是在室温高于30℃和潮湿的环境中应尽快地使用）。试纸条的样品端垂直向下，插入准备好的检测样本上清液中。试纸条样品端浸入样本液的深度约为0.5cm，不要超过箭头上端的黑色标记线。
- 在检测过程中，检测条应一直浸在样本液中，直至检测样本移行至检测窗口上端。取出检测条，平放在无吸收平面上，阅读检测结果。

### 结果判定

检测线及质控线一般可在3–5min内出现，但不同样品，检测信号出现的时间可有所不同。最佳反应结果应在5–10min内观测。30min后检测线可能会出现非特异变化，不要再判读结果。

- 阳性（有转基因）：在检测试条的检测区(T)和质控区(C)出现两条紫红色条带，一条检测线和一条质控线。
- 阴性（无转基因）：仅在检测试条上质控区(C)出现一条紫红色质控线。
- 无效结果：在质控线(C)位置未出现紫红色条带，表明操作不正确或试剂盒已经变质损坏，应重新测试。如问题仍然存在，应立即停止使用本批次产品，并与当地供应商联系。



### 注意事项

- 试剂盒应在有效期内使用；
- 请勿用手触摸检测窗口的白色膜面；
- 温度：试剂盒的使用温度应在15–30℃；
- 保存：如试剂盒保存不好，检测条易受潮（试剂盒内干燥剂已变色），检测条受潮对检测性能有显著影响；
- 样本稀释：样本的制备与稀释对检测性能有明显影响。如样品液有大量组织块或太稠，会影响检测条吸取样品液；如样品太稀，则易出现假阴性结果；
- 检测条浸入样品液的深浅：浸入深度不能超过0.5cm。如浸入太深，试剂盒的一些有效成分将被释放入样品液，而不是进入检测区实现检测反应，出现无效结果。另一方面，如浸入太浅，则样品液爬行速度降低，甚至无法向上爬行，同样出现无效检测结果；
- 检测条不能回收或重复使用；
- 未使用检测条应避免光密封保存；
- 切勿食用。

### 质量控制

尽管本产品包含了内质控（检测过程中，在检测窗口出现的紫红色质控线），但仍推荐使用标准阴性样本和阳性样本做外部质控，以监控检测过程是否出错。

### 产品特性

- 特异性**

本产品特异地检测抗除草剂基因PAT/BAR蛋白，与BT系列转基因产品、CP4-EPSPs、NPTII等转基因植株或蛋白没有交叉反应。
- 灵敏性**

本产品检测灵敏度为标准蛋白纯度1ng/ml。由于转相同基因不同种属植株及植株不同部位表达能力不同，因此本产品对不同种属植株及同一植株不同部位的检测能力会不同。与样本制备时的稀释度也有关系。按照本说明书制备样本，转PAT/BAR棉花或水稻种子的检测灵敏度为1/1000（即999粒非转PAT/BAR棉花或水稻种子中混入1粒转PAT/BAR棉花或水稻种子）。
- 精密度**

用本产品3个不同批次的100份检测试纸条于不同时间不同地点分别测试相同的阳性和阴性样本。对同一检测样本，3个批次的试条检测结果没有明显差异。

### 版本 1.0