

驴马骡源性成分荧光 PCR 检测试剂盒

Real Time PCR *Equus asinus/Equus caballus/Equus ferus x asinus* DNA Detection Kit

货号: GM52

LOT#GM52

保存条件: -20°C

Storage: -20°C

保质期: 1 年, 见标签

Expiry: 1 year, specified on product label

产品规格: 100 次反应

Product Size: 100 Rxn

制品简介

本试剂盒是利用 Real Time PCR 技术快速检测驴、马、骡(*Equus asinus/Equus caballus/Equus ferus x asinus*)基因组 DNA 的试剂盒。采用多重荧光 PCR 技术, 根据驴马骡细胞核 DNA CKM 基因上多态性的差异进行驴马骡源性成分鉴定。应用 Taqman-MGB 荧光检测技术, 对反应液中含有的三种不同荧光染料进行三通道同步检测, 在同一反应管内对驴 ckm 基因、马 ckm 基因及内参照 (Internal Control, 16s rRNA) 同时进行扩增, 并通过标记三种不同荧光物质 (驴 ckm FAM、马 ckm VIC、内参基因 16s rRNA ROX) 的特异性探针进行特异性杂交, 实现多色荧光同步检测同源性相近的驴、马、骡源性成分。其中对内参照反应的检测, 可以监控反应是否正常进行, 防止假阴性的结果。

试剂盒中 2x Real Time PCR 反应液已经将 DNA 聚合酶、反应用 Buffer、dNTPs 等试剂预混在一起。进行实验时, PCR 反应液的配制十分简单。PCR 反应用 DNA 聚合酶使用了 Hot Start 法 DNA 聚合酶, 与精心研制的 Real Time PCR 用 Buffer 组合使用, 可以有效抑制非特异性的 PCR 扩增, 大大提高了 PCR 的扩增效率。本检测无需电泳, 简单快速。

制品组成及包装量

成分	规格 (100 Rxn)	主要成分
2x Real Time PCR 反应液	1 ml	含 HS-DNA 聚合酶、dNTPs、Buffer、Mg ²⁺ 等
驴马引物探针混合液	180 µl	含驴、马 ckm 基因及内参照基因扩增用引物/探针, 避光保存
阴性对照	50 µl	无核酸酶水
阳性对照	50 µl	骡 DNA

储存条件

-20°C 保存一年, 一个月内频繁使用可置于 4°C 保存。

适用范围

本制品用于驴、马、骡 (*Equus asinus/Equus caballus/Equus ferus x asinus*) 的真伪检测, 可有效鉴别同源性相近的驴、马和骡及其他伪品 (猪、牛、羊、狗、兔等)。

实验操作

1、反应体系配制 (20 µl 体系)

试剂	体积
2x Real Time PCR 反应液	10 µl
驴马引物探针混合液	1.8 µl
样品 DNA	2 µl
去离子水	6.2 µl
扩增总体积	20 µl

2. PCR 反应循环的设置

第一阶段 95°C, 30 s;

第二阶段 95°C, 10 s; 60°C, 30 s; 循环 40 次;

在第二阶段的 60°C 时收集 FAM、VIC/JOE/HEX 和 ROX 荧光信号 (VIC/JOE/HEX 可以使用同一检测通道)。

注: 荧光信号设置为:

驴 Reporter Dye1: FAM; 马 Reporter Dye2: VIC/JOE/HEX; 内参基因 Reporter Dye3: ROX;

Quencher Dye1: None; Quencher Dye2: None; Quencher Dye3: None;

Passive Reference: None。

3. 结果分析

	FAM 通道 (驴 ckm 基因)	VIC 通道 (马 ckm 基因)	ROX 通道 (动物内参基因)	结果判断
1	+	-	+	报告结果为驴
2	-	+	+	报告结果为马
3	+	+	+	报告结果为骡
4	-	-	-	样本不合格, 建议复检

阳性判断见下表

结果判断	阳性结果判断 CT 值
阴性	无 CT 值或 CT > 36
阳性	CT ≤ 36

注意事项

本试剂盒检测灵敏度高, 为了防止气溶胶污染, 实验应严格分区操作。

第一区: 反应液配制区。

第二区: 样品制备区。

第三区: 样品添加区及反应检测区。

三个区之间必须进行物理性隔离, 避免人为因素造成污染。

应用实例

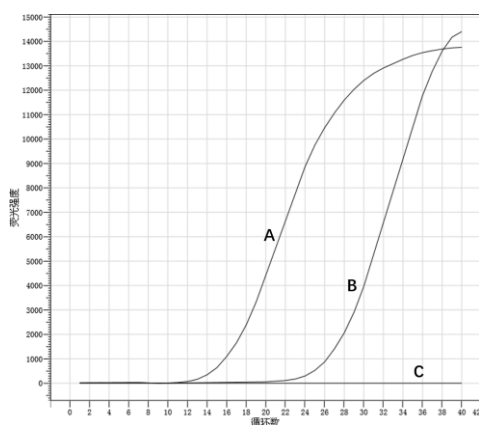


图 1 驴样品检测 Real Time PCR 扩增图

A 为内参基因 16s rRNA (+); B 为驴 CKM 核基因 (+); C 为马 CKM 核基因 (-); 鉴定样品为驴。

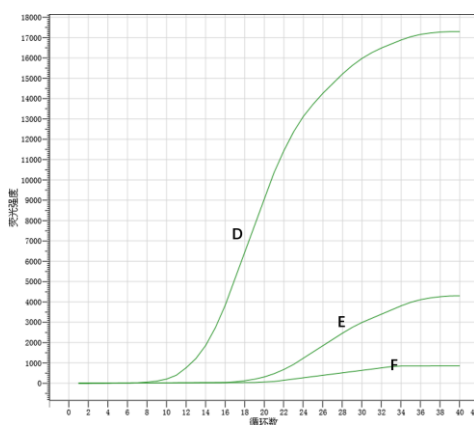


图 2 马样品检测 Real Time PCR 扩增图

D 为内参基因 16s rRNA (+); E 为马 CKM 核基因 (+); F 为驴 CKM 核基因 (-); 鉴定样品为马。

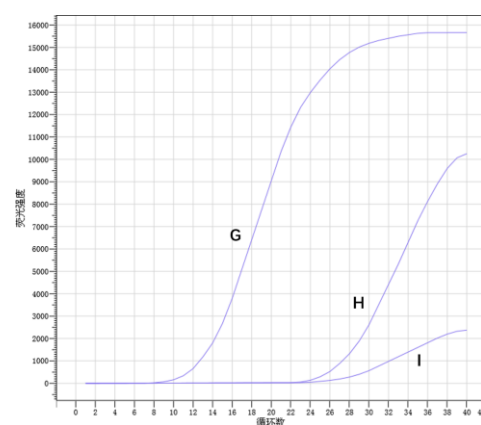


图 3 骡样品检测 Real Time PCR 扩增图

G 为内参基因 16s rRNA (+); H 为驴 CKM 核基因 (+); I 为马 CKM 核基因 (+); 鉴定样品为骡。