



# 鸡源性成分探针法 qPCR 试剂盒

Gallus gallus domesticus-Ingredient Probe qPCR Kit

仅

供

科

研

使

用

<b>产品及特点</b>	<p>本试剂盒可用于检测食品或其他材料中是否有鸡的成分。现代食品加工工艺极大 改变了食材原有的味道、气味、色泽、纹理和质地等特性，因此传统的感官鉴别技术 已经无法对食材的真伪进行准确的鉴定。同时部分食材还有致敏性，因此基于基因检 测的、快速灵敏的食材来源检测技术将对食品监管和安全提供重要的保障。此外还有 很多情况需要检测非食品样本中是否有鸡源性成分。本产品就是为满足这些需求根据 PCR 原理开发的产品，<b>它具有下列特点：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板</li> <li>2. 引物和探针经过优化，分析灵敏性高，可以达到 100 拷贝/反应。</li> <li>3. 提供阳性对照，便于制备标准曲线和用作扩增对照，排除假阴性结果。</li> <li>4. 含识别内源性内参的引物和探针，便于排除 PCR 假阴性样本。</li> <li>5. 特异性高，靶分子的引物和探针是根据鸡基因组 DNA 高度保守区设计，不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。</li> <li>6. 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。</li> <li>7. 本产品足够 50 次 20 <math>\mu\text{L}</math> 体系的探针法 PCR 反应。</li> <li>8. 本产品只能用于科研。</li> </ol>																					
<b>规格及成分</b>	<table border="1" data-bbox="355 1220 1565 1685"> <thead> <tr> <th>成分</th><th>规格</th><th>包装</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×Probe qPCR MasterMix</td><td>500<math>\mu\text{L}</math></td><td>0.5mL 本色管</td></tr> <tr> <td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td><td>1mL</td><td>1.5mL 绿盖管</td></tr> <tr> <td>鸡源性成分 PCR 引物-探针干粉 (含内参引物探针)</td><td>50 次</td><td>0.5mL 白色管</td></tr> <tr> <td>鸡源性成分 PCR 阳性对照(1E7 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>)</td><td>50<math>\mu\text{L}</math></td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr> <tr> <td>使用手册</td><td>1 份</td><td>1 份</td></tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">本产品采用五孔盒包装</td></tr> </tbody> </table> <p><b>注 意：</b>引物-探针干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 216mL 超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20°C保存。</p>	成分	规格	包装	2×Probe qPCR MasterMix	500 $\mu\text{L}$	0.5mL 本色管	荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管	鸡源性成分 PCR 引物-探针干粉 (含内参引物探针)	50 次	0.5mL 白色管	鸡源性成分 PCR 阳性对照(1E7 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	50 $\mu\text{L}$	0.5mL 黄盖管	使用手册	1 份	1 份	本产品采用五孔盒包装		
成分	规格	包装																				
2×Probe qPCR MasterMix	500 $\mu\text{L}$	0.5mL 本色管																				
荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管																				
鸡源性成分 PCR 引物-探针干粉 (含内参引物探针)	50 次	0.5mL 白色管																				
鸡源性成分 PCR 阳性对照(1E7 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	50 $\mu\text{L}$	0.5mL 黄盖管																				
使用手册	1 份	1 份																				
本产品采用五孔盒包装																						
<b>使用方法</b>	<p><b>一、稀释标准曲线样品</b> (以阳性对照 1E1-1E6 拷贝/<math>\mu\text{L}</math> 这 6 个 10 倍稀释度为例)。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 标记 6 个离心管，分别为 6、5、4、3、2、1。</li> <li>2. 在各管中加入 45 <math>\mu\text{L}</math> 荧光 PCR 专用模板稀释液。</li> </ol>																					

3. 在 6 号管中加入  $5 \mu\text{L}$   $1\text{E}7$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得  $1\text{E}6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
4. 换枪头, 在 5 号管中加入  $5 \mu\text{L}$   $1\text{E}6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得  $1\text{E}5$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
5. 换枪头, 在 4 号管中加入  $5 \mu\text{L}$   $1\text{E}5$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得  $1\text{E}4$  拷贝/ $\mu\text{L}$  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阳性样品。放冰上待用。

## **二、样品 DNA 的制备**

7. 如果有  $N$  个样品, 设置  $N+2$  个提取, 多出的一个是制备 PC (样品制备阳性对照), 一个是制备 NC (样品制备阴性对照)。可以用确认是阳性的样本作为阳性对照, 用确认是阴性的样本作为阴性对照。
8. 用自选方法纯化样品的 DNA, 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 $\mu\text{L}$ 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×Probe qPCR MasterMix	各 $10\mu\text{L}$	$10\mu\text{L}$	各 $10\mu\text{L}$
鸡源性成分 PCR 引物-探针混合液(含内参引物探针)	各 $4\mu\text{L}$	$4\mu\text{L}$	各 $4\mu\text{L}$

	N+2 个待测样 (含内源性内参)	各 6μL	不加	不加
	超纯水	不加	6μL	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 6μL

**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	4min
PCR 反应 (40 个循环)	95°C	15sec
	60°C	45 sec (采集 FAM 通道和 Cy5 通道的荧光信号, 淬灭基团均为 BHQ)

**四、数据处理**

**12. 阴性阳性判断:** 没有 Ct 读数, 或 Ct 大于 40 判为阴性结果。有 Ct 读数, Ct 值小于 40, 荧光信号有对数增长, 有典型扩增曲线判为阳性结果。每个样本需要对 FAM 通道和 Cy5 通道的结果分别进行判定, 得到两个结果。

**13. 实验有效性判断:** 如果扩增阳性对照或制备阳性对照 FAM 通道结果为阴性则整个实验无效, 不需要分析数据, 需要分析原因, 可能是操作、仪器和试剂三方面的原因, 重做扩增或制备或跟仪器和试剂厂家联系。如果扩增阴性对照或制备阴性对照 FAM 通道结果为阳性, 说明环境污染, 则整个实验无效, 不需要分析数据, 需要分析失败原因, 直到污染消除。如果阳性对照和阴性对照正常, 则进入下一步分析样本的有效性。

**14. 样本有效性判断:** 如果样本 FAM 通道的结果为阳性, 则无论内参 Cy5 通道的结果是阴性还是阳性, 样本的结果均有效。如果样本结果为阴性, 内参通道结果也为阴性, 则此样品的阴性结果无效。此样品需要重新提取核酸和进行扩增。

**15. 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, 分别以阳性对照 FAM 通道和内参 Cy5 通道的 Ct 值为纵轴, 绘制标准曲线, 阳性对照 FAM 通道读数的标准曲线为斜线, r<sup>2</sup> 必须大于 0.95, 内参 Cy5 通道读数的标准曲线为一条跟 X 轴平行的横线。再以待测样品的 Ct**

	值从阳性对照 FAM 通道读数的标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值，再推算出其浓度。  16. 如果用于定性实验，对待测样品，如果其 FAM 通道的 Ct 没有读数、或 Ct 大于或等于 40 则均为阴性，如果小于 40 则为阳性。对任何 FAM 通道结果为阴性的待测样本，如果其对应的内参 Cy5 通道也为阴性，则此样品的阴性结果无效，此样品需要重复实验。
<b>PCR 编号</b>	TW-E10241
<b>说明书</b>	1 份
<b>自备试剂</b>	样品 DNA
<b>运输及保存</b>	低温运输，-20°C保存，有效期 1 年

**生产企业：上海通蔚实业有限公司**

**公司地址：上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603**

**公司电话：021-54845833**

**技术支持：15800441009**