

家鸽性别测定探针法 qPCR 试剂盒

Columba livia domestica Sex Determination Probe qPCR Kit

仅

供

科

研

使

用

产品及特点	家鸽在我们日常生活中十分常见，它在生态、经济和文化等方面都具有重要的价值。家鸽是单态性鸟，即雌雄同型，无论是幼鸟还是成鸟都很难从外观形态或其他行为上区分雌雄性别，给家鸽行业的从业者带来不便。例如对于肉鸽来说，雄鸽进食量大，但产肉不如雌鸽，故养雌鸽经济效益更高，但没法通过肉眼进行筛选，因此家鸽的性别鉴定技术的研究和建立具有十分重要的意义。本产品就是以家鸽 CHD（Chromobox-Helicase-DNA Binding Protein，染色体螺旋蛋白)基因为靶点，设计的专门检测家鸽性别的探针法 qPCR 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/反应。																											
	3. 提供阳性对照，用于制备标准曲线和用作扩增对照，排除假阴性实验。																											
	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。																											
	5. 特异性高，靶分子的引物和探针是根据家鸽 CHD-W 和 CHD-Z 基因设计，不会跟其他生物的 DNA 发生交叉反应。彼此也不会发生交叉反应。																											
	6. 既可用于定性检测，又可用于定量检测。定量检测时线性范围至少为 5 个数量级。																											
	7. 本产品足够 50 次 20μL 体系的探针法 PCR 反应。																											
	8. 本产品只能用于科研。																											
规格及成分	<table><tr><th>成分</th><th>规格</th><th>包装</th></tr><tr><td>2×Probe qPCR MasterMix</td><td>500μL</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>家鸽性别测定 PCR 引物-探针干粉（含内参引物探针）</td><td>50 次</td><td>0.5mL 棕色管</td></tr><tr><td>家鸽 CHD-W 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)</td><td>50μL</td><td>0.5mL 黄盖管</td></tr><tr><td>家鸽 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)</td><td>250μL</td><td>0.5mL 白盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>1 份</td><td>1 份</td></tr><tr><td colspan="3">本产品采用五孔盒包装</td></tr><tr><td colspan="3">注 意：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 220 mL 超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。</td></tr></table>	成分	规格	包装	2×Probe qPCR MasterMix	500μL	0.5mL 本色管	荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管	家鸽性别测定 PCR 引物-探针干粉（含内参引物探针）	50 次	0.5mL 棕色管	家鸽 CHD-W 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 黄盖管	家鸽 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	250μL	0.5mL 白盖管	使用手册	1 份	1 份	本产品采用五孔盒包装			注 意： 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 220 mL 超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。		
	成分	规格	包装																									
	2×Probe qPCR MasterMix	500μL	0.5mL 本色管																									
	荧光 PCR 专用模板稀释液	1mL	1.5mL 绿盖管																									
	家鸽性别测定 PCR 引物-探针干粉（含内参引物探针）	50 次	0.5mL 棕色管																									
	家鸽 CHD-W 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	50μL	0.5mL 黄盖管																									
	家鸽 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	250μL	0.5mL 白盖管																									
	使用手册	1 份	1 份																									
本产品采用五孔盒包装																												
注 意： 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 220 mL 超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。																												
使用方法																												
	一、样品 DNA 的制备																											

1. 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。

2. 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。

二、Probe qPCR 反应 (20 μL 体系，在样品制备室进行)

3. 如果做只做 1 次重复实验，则标记 N+3 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 CHD-W 基因 PCR 阳性对照（直接用本试剂盒提供的 CHD-W 阳性对照为模板），1 个用于 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照（直接用本试剂盒提供的 CHD-Z 阳性对照为模板）。

4. 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	CHD-W PCR 阳性对照	CHD-Z P 阳性对照
2×Probe qPCR MasterMix	各 10μL	10μL	10μL	10μL
家鸽性别测定 PCR 引物-探针混合液(含内参引物探针)	各 4μL	4μL	4μL	4μL
N+2 个待测样（自带内源性内参）	各 6μL	不加	不加	不加
家鸽 CHD-W 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	不加	不加	6μL	不加
家鸽 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	不加	不加	不加	6μL
超纯水	不加	6μL	不加	不加

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℃	4min
PCR 反应	95℃	15sec

	(40 个循环)	60℃	45 sec (采集 FAM 通道、HEX 通道和 Cy5 通道的荧光信号，淬灭基团均为 BHQ)
	<p>三、数据处理</p> <p>6. 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。每个反应管均可得到 FAM 通道、HEX 通道和 Cy5 通道的 Ct 数值和对应的阴性和阳性结果。</p> <p>7. 实验有效性判断：如果样本制备阳性对照管或/和 PCR 阳性对照管的 FAM 通道信号结果为阴性，则整个实验无效，不需要分析数据，需要分析失败原因，可能是操作、仪器和试剂三方面的原因，需要重做扩增或/和核酸制备，也可以直接跟仪器和试剂厂家联系。如果样本制备阴性对照管或/和 PCR 阴性对照管的 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，需要分析污染原因并将污染清除。如果两个阳性对照和两个阴性对照结果正常，说明本次实验有效，可以进入下一步分析。</p> <p>8. 样本 CHD-W 基因检测有效性判断：如果待测样本 FAM 通道的结果为阳性，则无论该样本的 Cy5 通道（对应内源内参）的结果是阴性还是阳性，该样本 FAM 通道的结果有效。如果待测样本管 FAM 通道的结果为阴性，Cy5 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。</p> <p>9. 样本 CHD-Z 基因检测有效性判断：如果待测样本 HEX 通道的结果为阳性，则无论该样本的 Cy5 通道（对应内源内参）的结果是阴性还是阳性，该样本 HEX 通道的结果有效。如果待测样本管 HEX 通道的结果为阴性，Cy5 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。</p> <p>10. 性别判断：如果样本同时为有效的 FAM 阳性和 HEX 阳性，相当于 CHD-W 和 CHD-Z 均为阳性，则为雌性。如果样本为 HEX 阳性信号阳性，相当于 CHD-Z 阳性，则为雄性。</p>		
PCR 编号	TW-E10244		
说明书	1 份		

自备试剂	样品 DNA
运输及保存	低温运输，-20℃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