

鸡源性成分探针法qPCR试剂盒（不含内参）

Gallus gallus domesticus-Ingredient Probe PCR Kit

CAT#:BN62504

低温运输，-20℃保存

产品及特点

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，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，灵敏度高，最低检测限可达100拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据鸡基因组DNA高度保守区设计，不会跟其它生物的DNA发生交叉反应。
5. 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5个数量级。
6. 本产品足够50次20 μ L体系的探针法荧光定量PCR反应。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Probe qPCR MasterMix	60001	500 μ L	0.5 mL
荧光PCR专用模板稀释液	60002	1 mL	1.5 mL
超纯水	60003	1 mL	1.5mL
鸡源性成分qPCR 引物-探针干粉	62504-4	50 次	0.5 mL
鸡源性成分阳性对照 (1E7拷贝/ μ L)	62504-5	50 μ L	0.5 mL
使用手册		1 份	无

注意：引物-探针干粉在使用前需要离心，然后在离心管中加入165 μ L的超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

运输及保存	低温运输, -20℃保存, 保存期限为24个月。
自备物品	超纯水, 样品DNA。
使用方法	一、稀释标准曲线样品（以1E1-1E6拷贝/μL这6个10倍稀释度为例）。 由于标准品浓度非常高, 因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行, 千万不能污染样品或本试剂盒的其他成分。本产品不提供活体样品做阳性对照, 只提供DNA片段作为阳性对照。 1. 标记6个离心管, 分别为6、5、4、3、2、1。 2. 用带芯枪头分别加入45 μL 荧光PCR专用模板稀释液, 最好用带芯枪头（下同）。 3. 在6号管中加入5 μL 1E7拷贝/μL的阳性对照(试剂盒提供), 充分震荡混匀1分钟, 得到1E6拷贝/μL的标准曲线样品。放冰上待用。 4. 换枪头, 在5号管中加入5 μL 1E6拷贝/μL的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡混匀1分钟, 得到1E5拷贝/μL的标准曲线样品。放冰上待用。 5. 换枪头, 在4号管中加入5 μL 1E5拷贝/μL的阳性对照(上步所得), 充分震荡混匀1分钟, 得到1E4拷贝/μL的标准曲线样品。放冰上待用。 6. 依次重复上面的操作得到6个稀释度的标准曲线样品。放冰上待用。 二、样品DNA的制备 7. 如果有N个样品, 最好设置N+2个提取, 多出的一个是PC（样品制备阳性对照）, 一个是NC（样品制备阴性对照）。可以用10 μL上步所得4号稀释液再加上一一定量的水使总体积跟每次制备要求的体积一样, 以此作为PC。另外用水作为NC。 8. 用自选方法纯化样品的DNA, 本试剂盒跟市场上大多数样品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、qPCR 反应（20 μL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。样品管和阴性对照设置完毕后才设置阳性对照，并且阳性对照样品要等所有管子盖上盖子储存好后最后加）：

成分	样品管 N+3个	PCR阴性 对照管	标曲样品管 (1-6)
2×Probe qPCR MasterMix	各10 μL	10 μL	各10 μL
鸡源性成分qPCR 引物-探针混合液	各3 μL	3 μL	各3 μL
待测样本DNA模板	7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加
第6步所得标准曲线样品稀 释液（1-6号）	不加	不加	各7 μL（1号样 到1号管，2号 样到2号管…）

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℃	10 min
PCR反应 (40个循环)	95℃	15 sec
	60℃	1min（采集FAM通道荧光信号，淬灭基团为 MGB）

四、数据处理

12. 如果扩增阳性对照或制备阳性对照结果为阴性，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要重做扩增或制备或跟厂家联系。如果扩增阴性对照或制备阴性对照结果为阳性，说明环境污染，则整个扩增或制备实验无效，不需要分析数据，需要跟厂家联系，购买新的引物和探针。
13. 如果阴性对照和阳性对照正常，则实验有效，可以进入后续分析。
14. 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，以Ct值为纵轴，绘制标准曲线。再以待测样品的Ct值从标准曲线上推算出样品DNA浓度的log值，再推算出其浓度。
15. 如果把本试剂盒用于定性检测，只判断阳性或阴性，则阴性对照必须无Ct或Ct大于或等于40。阳性对照必须有荧光对数增长，有典型扩增曲线，Ct值应该小

	于40，否则实验无效。如果实验有效，则分析待测样品，如果无Ct或Ct大于或等于40，则为阴性。如果Ct小于40则为阳性。
--	--