

北生京泽（启东）生物科技有限公司

江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路500号

网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

**CAT#:** **GZ15118SN/T2019**

**牦牛源性成分探针法荧光定量PCR试剂盒**

**（含内参）
*Manihot esculenta Crantz -Derived Material* Probe qPCR Kit**

**使用手册 V3.1**

**产品及特点**

本试剂盒可用于检测牦牛源性成分。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。本产品是根据探针法荧光定量PCR原理开发的牦牛源性成分检测试剂盒，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. 含有内参对照。
3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。
4. 特异性高，引物是根据牦牛源性成分DNA序列高度保守区设计，不会跟其他生物样本的DNA发生交叉反应。
5. 本产品足够50次25μL体系的探针法荧光定量PCR反应。
6. 本产品只能用于科研。

**成分规格**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **产品组成** | **编号** | **规格** |
| 2 ×Multiplex Probe qPCR Mix | GZ020703 | 650 μL |
| DEPC-H2O | GZ070401 | 1 mL |
| 牦牛源性成分qPCR引物-探针混合液 | GZ15118SN/T2019yp | 390 μL |
| 牦牛源性成分qPCR阴性对照 | GZ15118SN/T2019nc | 100 μL |
| 牦牛源性成分qPCR阳性对照 | GZ15118SN/T2019pc | 100 μL |

**注：****阳性对照含有牦牛目的基因片段和真核生物内参对照目的基因片段；阴性对照含有真核生物内参对照目的基因片段。**

**保存条件**

北京大学生命科学华东产业研究院生物试剂中心

江苏晨逸京泽生物科技有限公司 联合监制

网址：www.cygeneze.com；电话：40001-40007

北京大学生命科学华东产业研究院生物试剂中心

江苏晨逸京泽生物科技有限公司 联合监制

网址：www.cygeneze.com；电话：40001-40007

低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。阳性对照需要单独放置，不要污染其他试剂。

**使用方法**

**一、DNA提取(样本制备区)**

1. （选做）如果有N个样品待提取，可设置N+2个提取，多出的是PC（样品制备阳性对照）和NC（样品制备阴性对照）。可以取阳性对照的10μL再加上一定量的水，使总体积与待提取样品的规定体积一致，以此作为PC；取阴性对照的10μL再加上一定量的水，使总体积与待提取样品的规定体积一致，以此作为NC。

2. 用自选方法提取纯化样品DNA，本试剂盒跟市场上大多数核酸提取试剂盒兼容。

**二、试剂配制(试剂准备区)**

准备足量的qPCR管（样品管、阴性对照管、阳性对照管），向各qPCR管中分别加入下列成分。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **成分** | **N个****待检样品管** | **qPCR****阴性对照** | **qPCR****阳性对照** |
| 2 ×Multiplex Probe qPCR Mix | 各12.5 μL | 12.5 μL | 12.5 μL |
| 牦牛源性成分qPCR引物-探针混合液 | 各7.5 μL | 7.5 μL | 7.5 μL |

转移至模板添加区。

**三、添加模板(模板添加区)**

向qPCR管中分别加入5 uL模板，顺序为阴性对照（DEPC-H2O）、待测样品模板、牦牛源性成分qPCR阳性对照，离心30秒，立即进行扩增反应。

**四、扩增反应(扩增及产物分析区)**

将qPCR管放置在qPCR扩增仪器样品槽相应位置，进行扩增，扩增程序如下：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **程序段** | **循环数** | **温度** | **时间** |
| 1 | 1 | 95℃ | 10 min |
| 2 | 40 | 95℃ | 15 sec |
| 60℃ | 1 min |
| 信号通道 | FAM/HEX通道采集荧光信号 |

**五、结果分析**

5.1 质量控制

(a)阴性对照：FAM通道无Ct值或无明显扩增曲线，HEX通道Ct值＜30.0；

(b)阳性对照：FAM通道有Ct值，且出现典型的扩增曲线，Ct值≤35.0，HEX通道Ct值＜30.0。

以上要求需在同一实验中同时满足，有一条不满足时，结果视为无效。

**注：FAM通道为牦牛源性成分目的基因；HEX通道为真核生物内参对照目的基因。**

5.2 结果判定

(a)如FAM通道Ct值≤35.0，HEX通道Ct值＜30.0，则判定为被检样品阳性；

(b)如FAM通道Ct值≥40.0，HEX通道Ct值＜30.0，则判定为被检样品阴性；

(c)如FAM通道35.0＜Ct值＜40.0，HEX通道Ct值＜30.0，则重复试验一次。如再次扩增后FAM通道Ct值仍为35.0＜Ct值＜40.0，HEX通道Ct值＜30.0，则判定被检样品可疑。

(d)如HEX通道Ct值≥30.0或无扩增曲线，则需重新取样检测。

**关联产品**

|  |  |
| --- | --- |
| **产品编号** | **产品名称** |
| GZ020701-1 | 2 × Probe qPCR Mix |
| GZ020801-1 | 2×SYBR qPCR Mix |

