|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **天净沙系列** | **CAT#:13-110****低温运输，-20℃保存** |  |
| **鸡源性成分PCR试剂盒*****Chicken-Derived Material* PCR Kit**  |
| **使用手册V1.0** |
| **北京克必隆分子诊断技术有限公司****北京市海淀区上地信息路国际创业园东区2号楼****网址：[www.bingene.com](http://www.bingene.com)；电话：400-6005850；电邮：order@bingene.com** |
| **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。本产品就是为满足这一需求根据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。
2. 根据鸡保守区域设计引物，能专一性地检测出样品中的鸡成分，但不能检测其他非鸡成分。
3. 比ELISA更加灵敏。对混合样品中鸡成分的检测下限为0.1%，对样品中鸡成分的核酸检测下限为 1.0ng/µL。
4. 快速，整个检测过程（按一个样品计）需2.0小时左右。
5. 提供阳性标准品，便于分析实验结果。
6. 本产品足够50次20μL体系的常规PCR检测。
7. 本只能用于科研。
 |
| **规格及成分** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **成 份** | **编号** | **五孔盒包装** |
| PCR MagicMix 3.0 | 90805 | 500μL（红盖） |
| 超纯水 | 100935 | 1mL（紫色） |
| 鸡源性成分PCR引物混合液 | yw13-110 | 100μL（白盖） |
| 鸡源性成分PCR阳性对照（1×10E7拷贝/μL） | pc110 | 50μL（黄盖） |
| 使用手册 | 13-110sc | 1份 |

 |
| **运输及保存** | 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。 |
| **自备试剂** | 样品DNA。 |
| **使用方法** | 一、样品DNA的制备1. 用自选方法纯化N+2个样品的DNA，本试剂盒跟市场上大多数DNA提取试剂盒兼容。
2. 如果有N个样品，则需要做N+2个提取，包括一个样品制备阳性对照和一个样品制备阴性对照。样品制备阳性对照是在跟试剂盒所要求的样品体积相当的水中（如果试剂盒一次处理需要200μL样品，则此处使用200μL水），加10μL试剂盒提供的PCR阳性对照（1×10E7拷贝/μL）的10000倍稀释液（需要提前将阳性对照稀释10000倍）而得，样品制备阴性对照是直接用所需量的水。提取结束后最后得到模板DNA放冰上待用。

二、设置PCR反应（20μL体系）1. 对N+2个样品，在PCR时需要增加一个PCR阳性对照和一个PCR阴性对照，故需要设置N+4个反应。在N+4个PCR管中分别加入下列成分：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **成分** | **N+2个****样品管** | **PCR****阴性对照** | **PCR****阳性对照** |
| PCR MagicMix 3.0  | 各10μL | 10μL | 10μL |
| 鸡源性成分PCR引物混合液 | 各2μL | 2μL | 2μL |
| N+2个样品DNA模板 | 各8μL | - | - |
| PCR阴性对照（水） | - | 8μL | - |
| 第2步所得PCR阳性对照的10000倍稀释液 | - | - | 8μL |

1. 按下表设置PCR反应：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **过程** | **温度** | **时间** |
| 预变性 | 95℃ | 5 min |
| PCR反应（35个循环） | 95℃ | 15 sec |
| 55℃ | 30 sec |
| 72℃ | 30 sec |
| 最后延伸 | 72℃ | 10 min |

三、电泳检测1. 取5-10uL扩增产物进行常规琼脂糖电泳，检测扩增效果，由于扩增产物较短，建议用1.5%-2.0%的琼脂糖凝胶。
2. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为266bp。如果两个阴性对照（样品制备阴性对照或PCR阴性对照）有此扩增产物，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析实验结果。如果所有样品和PCR阳性对照均无此扩增产物，则说明有系统性的问题（试剂，设备，程序，操作等），需要重复并排查原因。
3. 如果没有上述两种情况，则实验有效，可以分析样品的扩增结果。N+2个样品中扩增产物的判断为阳性，无则判定为阴性。
 |
| **关联产品** | 鸡源性成分PCR试剂盒 |

20211102dx