|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **天净沙系列** | **CAT#:13-118****低温运输，-20℃保存** |  |
| **牦牛源性成分电泳法PCR试剂盒*****Bos mutus-*Ingredient PCR Kit** |
| **使用手册V1.0** |
| **江苏天净沙基因诊断技术有限公司****网址：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牦牛的成分。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模板。
2. 产品经过精心优化，分析灵敏性能到达1000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，引物是根据牦牛高度保守区设计，*in silico*分析发现它只能检测牦牛成分，不会跟除此之外的其他生物发生交叉反应。
5. 本产品足够50次20μL体系的常规PCR反应。
6. 本产品只能用于定性实验，不能用于定量实验。
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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 成份 | 编号 | 规格 | 包装材料 |
| 2×PCR MasterMix（电泳法） | 990805 | 0.5 mL | 0.5 mL本色管 |
| 超纯水 | 210806 | 1 mL | 1.5mL蓝盖管 |
| 牦牛源性成分PCR引物混合液 | yw13-118 | 100 μL | 0.5 mL白盖管 |
| 牦牛源性成分PCR阳性对照(1×10E4 拷贝/μL) | pc13-118 | 250 μL | 0.5 mL黄盖管 |
| 使用手册 | 13-118sc | 1份 | 无 |

 |
| **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动植物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。可以用10uL试剂盒提供的PCR阳性对照（1×10E4拷贝/μL，本试剂盒提供）加水作为样本制备的阳性对照，加水后总体积跟核酸纯化试剂盒所要求的起始样本体积一致，直接用水作为制备的阴性对照。**二、设置PCR反应（20μL体系）**3. 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** |
| 2×PCR MasterMix（电泳法） | 各10 μL | 10 μL | 10 μL |
| 牦牛源性成分PCR引物混合液 | 各2 μL | 2 μL | 2 μL |
| N+2个样品DNA模板 | 各8 μL | - | - |
| PCR阴性对照（水） | - | 8 μL | - |
| 牦牛源性成分PCR阳性对照(1×10E4 拷贝/μL) | - | - | 8 μL |

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℃ | 45 sec |
| 54℃ | 45 sec |
| 72℃ | 30 sec |
| 最后延伸 | 72℃ | 10 min |

**三、电泳检测**5. 取10μL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%的琼脂糖凝胶。6. 阳性样品预期得到的扩增产物长度为319bp。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。7. 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** | 牦牛源性成分可视化LAMP扩增试剂盒 |

20220418lyh