

## 马鹿(*Cervus elaphus*)源性成分荧光 PCR 检测试剂盒

### Real Time PCR Cervus elaphus DNA Detection Kit

货号: GM51

LOT#GM51

保存条件: -20°C

Storage: -20°C

保质期: 1 年, 见标签

Expiry: 1 year, specified on product label

产品规格: 100 次反应

Product Size: 100 Rxn

#### 制品简介

本试剂盒是利用 Real Time PCR 技术快速检测马鹿(*Cervus elaphus*)基因组 DNA 的试剂盒。采用双标记 Taqman-MGB 荧光 PCR 技术, 根据线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 基因上动物间多态性的差异进行马鹿源性成分鉴定。应用多色荧光检测技术, 对反应液中含有的两种不同荧光染料进行两通道同步检测, 在同一反应管内对马鹿目的基因及内参照 (Internal Control) 同时进行扩增, 并通过标记两种不同荧光物质 (马鹿 FAM、内参基因 ROX) 的特异性探针进行特异性杂交, 实现多色荧光同步检测。其中对内参照反应的检测, 可以监控反应是否正常进行, 防止假阴性的结果。

试剂盒中 2x Real Time PCR 反应液已经将 DNA 聚合酶、Buffer、dNTPs 等试剂预混在一起。进行实验时, PCR 反应液的配制十分简单。PCR 反应应用 DNA 聚合酶使用了 Hot Start 法 DNA 聚合酶, 与精心研制的 Real Time PCR 用 Buffer 组合使用, 可以有效抑制非特异性的 PCR 扩增, 大大提高了 PCR 的扩增效率。本检测无需电泳, 简单快速。

#### 制品组成及包装量

成分	规格 (100 Rxn)	主要成分
2x Real Time PCR 反应液	1 ml	含 HS-DNA 聚合酶、dNTPs、Buffer、Mg <sup>2+</sup> 等
马鹿引物探针混合液	120 µl	含马鹿目的基因及内参照基因扩增用引物/探针, 避光保存
阴性对照	50 µl	无核酸酶水
阳性对照	50 µl	马鹿 DNA

#### 储存条件

-20°C 保存一年, 一个月内频繁使用可置于 4°C 保存。

#### 适用范围

本制品用于马鹿 (*Cervus elaphus*) 的真伪检测, 可有效鉴别出类似品 (梅花鹿、驯鹿、白唇鹿、驼鹿、水鹿、坡鹿等) 及伪品 (猪、马、牛、羊等)。

#### 实验操作

##### 1、反应体系配制 (20 µl 体系)

试剂	体积
2x Real Time PCR 反应液	10 µl
马鹿引物探针混合液	1.2 µl
样品 DNA	2 µl
去离子水	6.8 µl
<b>扩增总体积</b>	<b>20 µl</b>

## 2、PCR 反应循环的设置

第一阶段 95°C, 30 s;

第二阶段 95°C, 10 s; 55°C, 30 s; 循环 40 次;

在第二阶段的 55°C 时收集 FAM 和 ROX 荧光信号。

注：荧光信号设置为：

马鹿 Reporter Dye1: FAM; 内参基因 Reporter Dye2: ROX;

Quencher Dye1: None; Quencher Dye2: None;

Passive Reference: None。

## 3、结果分析

	FAM 通道 (马鹿阳性基因)	ROX 通道 (动物内参基因)	结果判断
1	+	+	报告结果为马鹿
2	-	+	报告结果为阴性
3	-	-	样本不合格, 建议复检

阳性判断见下表

结果判断	阳性结果判断 CT 值
阴性	无 CT 值或 CT > 35
阳性	CT ≤ 35

## 注意事项

本试剂盒检测灵敏度高, 为了防止气溶胶污染, 实验应严格分区操作。

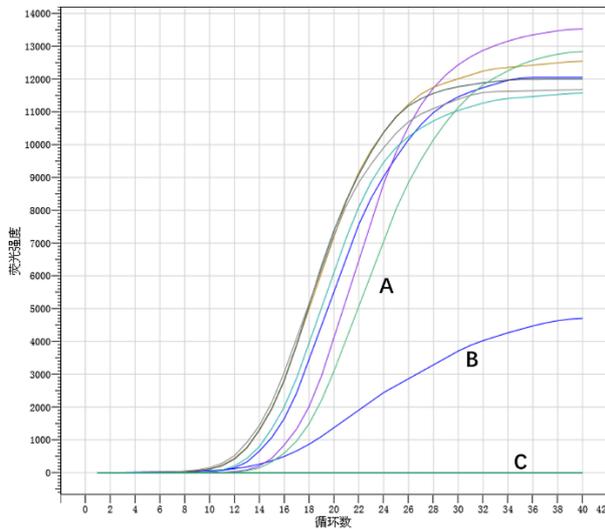
第一区: 反应液配制区。

第二区: 样品制备区。

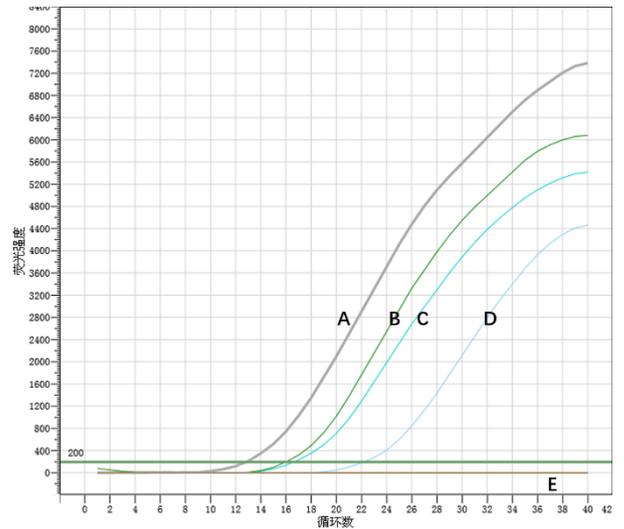
第三区: 样品添加区及反应检测区。

三个区之间必须进行物理性隔离, 避免人为因素造成污染。

## 应用实例



用 GM51 检测马鹿、类似品 (驯鹿、白唇鹿、驼鹿、水鹿、坡鹿) 及伪品 (猪、马、牛、羊), 按说明书体系与程序进行 Real Time PCR 扩增, 结果如上图, A 为所有样品内参基因扩增, B 为马鹿阳性扩增, C 为类似品及伪品的阴性扩增。



马鹿骨组织不同部位取样检测实例, 结果如上图, A 样本为马鹿肌肉组织, B 样本为骨髓组织, C 样本为马鹿骨组织 (脱钙处理), D 样本为马鹿骨组织 (未脱钙处理), E 为阴性对照。