

猪源性DNA荧光PCR检测试剂盒

产品组成

猪源性 DNA 荧光 PCR 检测试剂盒	50tests
Cat. No.	7804050
核酸纯化试剂盒	50tests/kit
核酸扩增试剂	
猪源 PCR 主反应液	1000 μ l \times 2
Taq 酶混合液	30 μ l \times 1
对照品	
阴性对照	50 μ l \times 1
强阳性对照（猪肉中组织总 DNA）	50 μ l \times 1
临界阳性对照（猪肉中组织总 DNA）	50 μ l \times 1

产品储存与有效期

试剂请保存于-20℃，不宜反复冻融，使用前应在室温下完全融化，并充分振荡混匀后稍事离心；有效期为十二个月。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒利用一对猪线粒体 DNA 的特异性引物，一条特异性荧光探针，采用耐热 DNA 聚合酶（Taq 酶）、四种单体核苷酸（dNTPs）等成分，并应用 PCR 技术实现对猪线粒体 DNA 保守基因的扩增，同时通过外标的方法实现对样品中的线粒体 DNA 进行检测。

DNA检测限度为0.0001 ng/ μ l。

本试剂盒对牛、羊、马、驴、鸡、鸭、鹅、兔标本均无非特异性扩增。

用户需自备的试剂与物品

1. 1.5 ml 离心管，8 联排或单管 PCR 管
2. 移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 旋涡震荡器
6. 本试剂盒适用于 ABI7000、StepOne™，StepOnePlus™或其它类似的荧光定量检测仪。

使用前准备

1. 样本处理（样本处理区）
严格按照试剂盒内所附操作说明书对样本进行处理。
2. 扩增试剂准备（PCR前准备期）
从试剂盒中取出PCR主反应液和Taq酶，在室温下融化并振荡混匀简短离心，使试剂沉积到管底。

操作步骤：

1. 每个测试反应体系配制如下：

试剂	猪源 PCR 主反应液	Taq 酶
用量 (μl)	34.6	0.4

2. 根据要检测的样本量计算好各试剂组分使用量，加入1.5 ml离心管中，充分混匀，简短离心，向设定的n个（n=样本数+1管强阳性对照+1管临界阳性对照+1管阴性对照）PCR反应管中分别加入35 μl PCR检测反应液，转移至样本处理区（注意由于移液器的误差，通常混好的n个样本PCR检测反应液只够分装n-1个PCR管，建议计算检测样本数时增加一管）。

举例：如果需要检测检测4个样本，则应按8个（n+1个）PCR检测反应液的量配制试剂，即：猪源检测PCR主反应液 $34.6 \times 8 = 276.8$ μl，再加入Taq酶 $0.4 \times 8 = 3.2$ μl，混匀后按每管35μl将PCR检测反应液分装到7个PCR管中，多余的PCR检测液则丢弃不用。

3. 加样（样本处理区）

在 PCR 反应管中分别加入制备好的 DNA 溶液及对照品（通常是阴性对照 1 管、临界阳性对照 1 管、强阳性对照 1 管）各 5 μl，盖紧管盖，简短离心，将反应管放入荧光 PCR 检测仪中，记录样本摆放顺序。

4. PCR反应（检测区）：

步骤	循环数	温度(°C)	反应时间(min:sec)
1	1	95	01:00
2	40	95	00:15
		60	00:35

荧光信号的收集（Detector）设定为FAM，参比（Passive）设定为ROX，数据的采集定在60℃。

结果分析：

1. 结果分析条件设定：

使用 ABI PRISM 7000荧光PCR检测仪进行结果分析时基线（baseline）取6-10或6-15个循环的荧光信号；阈值（threshold）设定原则以基线刚好超过阴性对照品扩增曲线的最高点，且Ct值=40为准。定量标准曲线的相关系数应达0.97以上。

2. 质控标准

2.1. 本试剂盒对猪源性成分DNA的检测下限为0.0001 ng/μl。

2.2. 阴性对照测定结果为0，Ct值一栏显示为undet。

2.3. 强、临界阳性对照的定量结果在试剂盒提示的规定允许范围内。

3. 结果判断

3.1. 对于Ct值介于强阳性和临界阳性之间的样本，提示本次测定结果在试剂盒有效检测线性范围内。可直接判断为“检出猪源性DNA成分。”

3.2. 对于Ct值大于临界阳性的样本，提示本次测定结果在试剂盒有效检测线性范围下限。所测结果仅供参考，应重复检测或报告注明“检出的猪源性DNA含量低于0.0001 ng/μl，不排除送检样品污染有猪源成分的可能性。”

3.3. 测定结果为0（Ct值一栏为undet）的样本，可直接判断为“未检出猪源性DNA成分。”