

#### 试剂盒组分:

| 规格                             | 100T  |
|--------------------------------|-------|
| Lyophilized TaqMan PCR Reagent | 1 瓶   |
| 2×TaqMan PCR Buffer5           | 1 ml  |
| Horse TaqMan PCR Assay         | 1 支   |
| 阳性标准基因组                        | 20 µl |

#### 试剂盒性能说明:

(1) 本产品为马源性成分定性检测试剂盒,即可判断样品中是否含有马源性成分,在同一管中检测马源性 DNA 与内参基因。

(2) 靶标基因及探针:试剂盒采用双通道荧光探针设计。

|        |       |
|--------|-------|
| FAM 通道 | 马源性基因 |
| HEX 通道 | 内参基因  |

(3) 样品要求:提取的核酸样品浓度不可低于 10ng/µl。

#### 适用样品

本试剂盒适用于畜禽肉、肉质食品、化妆品和饲料等样品中马源性成分的鉴定。

#### 使用方法:

1、TaqMan PCR Reagent 为冻干品形式,内含热启动 Fast Taq DNA 聚合酶、dNTP 等,在未溶解前,该制品可-20℃长期保存,并可室温运输,性能无下降。使用前每瓶用 1ml 的 2×TaqMan PCR Buffer5 溶解后,可立即使用,剩余试剂可在-20℃保存 1 个月,在-60℃以下长期保存。

2、Horse TaqMan PCR Assay 为干粉形式(含引物和探针),每支可完成 100 次检测。该制品可-20℃长期保存,并可室温运输,性能无下降。使用前每支用 500 µl 的 ddH<sub>2</sub>O 溶解后,可立即使用,剩余试剂可在-20℃保存 1 个月,在-60℃以下长期保存。

3、按照如下组分配制 PCR 反应体系:

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| 溶解后的 TaqMan PCR Reagent     | 10 µl  |
| 溶解后的 Horse TaqMan PCR Assay | 5 µl   |
| 提取的核酸 DNA 样品                | 1~5 µl |
| ddH <sub>2</sub> O 加入到至总体积为 | 20 µl  |

每个反应基因组 DNA 的参考用量为 10~50ng, 过量或过低的样品浓度,可能会导致检测结果有偏移。

4、进行 Real-Time PCR 扩增 (FAM/HEX 信号), 程序如下:

|          |     |                   |
|----------|-----|-------------------|
| Stage 1: | 95℃ | 30 s              |
| Stage 2: | 95℃ | 5 s               |
|          | 60℃ | 20 s (收集信号) 30 循环 |

5、结果判读

#### 5.1 实验成立条件

(1). 随盒提供的阳性标准基因组

内源内参 (HEX 信号) 的扩增 Ct 通常在 14-18 之间。

马源性基因 (FAM 信号) 的扩增 Ct 通常在 14-18 之间。

(2). 阴性水对照的扩增无 Ct

(3). 测试样品

内源内参 (HEX 信号) 的扩增 Ct<25。若测试样品内源内参扩增 Ct>25, 表明基因组 DNA 样品浓度不高或质量不佳, 检测结果可能不准确, 需重新制备核酸样品再检。

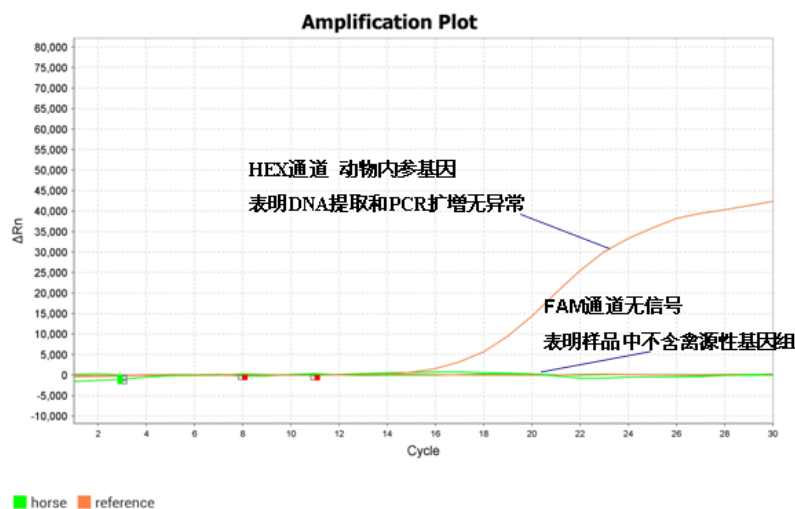
#### 5.2 判定标准

(1) 阳性: FAM 信号扩增曲线明显, 表明样品中含马源性成分。

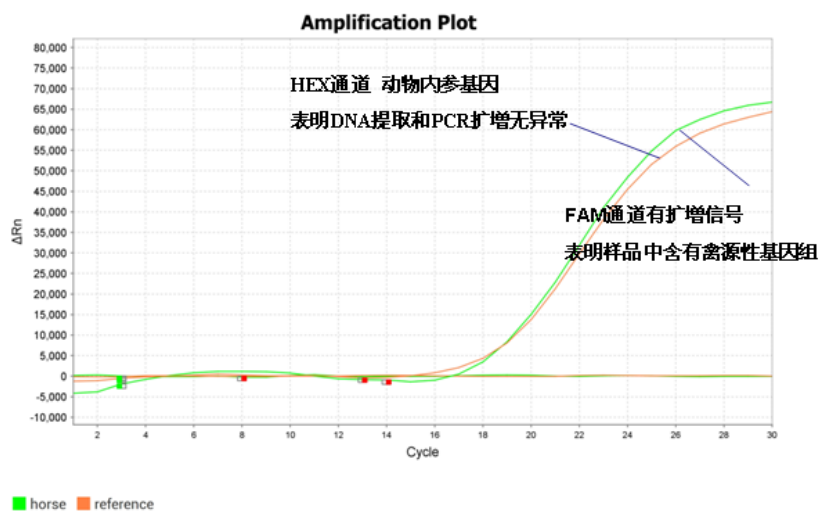
(2) 阴性: FAM 信号无 Ct (平线), 表明样品中不含马源性成分。

## 实验实例

### 1. 典型的马源性阴性样品扩增图片



### 2. 典型的马源性阳性样品扩增图片



### 3. 典型的扩增失败样品（需要重新制备 DNA）

