

试剂盒组分:

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

试剂盒性能说明:

(1) 本产品为猪源性成分定性检测试剂盒,即可判断样品中是否含有猪源性成分,在同一管中检测猪源性 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 猪源性基因

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

本试剂盒适用于畜肉、肉质食品、化妆品和饲料等样品中柱源性成分的鉴定。

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°C 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°C 保存 1 个月,在-60°C 以下长期保存。

2、Porcine 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°C 长期保存,并可室温运输,性能无下降。使用前每支用 500 μl 的 ddH₂O 溶解后,可立即使用,剩余试剂可在-20°C 保存 1 个月,在-60°C 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 Porcine TaqMan PCR Assay 5 μl

提取的核酸 DNA 样品 1~5 μl

ddH₂O 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°C 30 s

Stage 2: 95°C 5 s

60°C 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。

猪源性基因 (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。

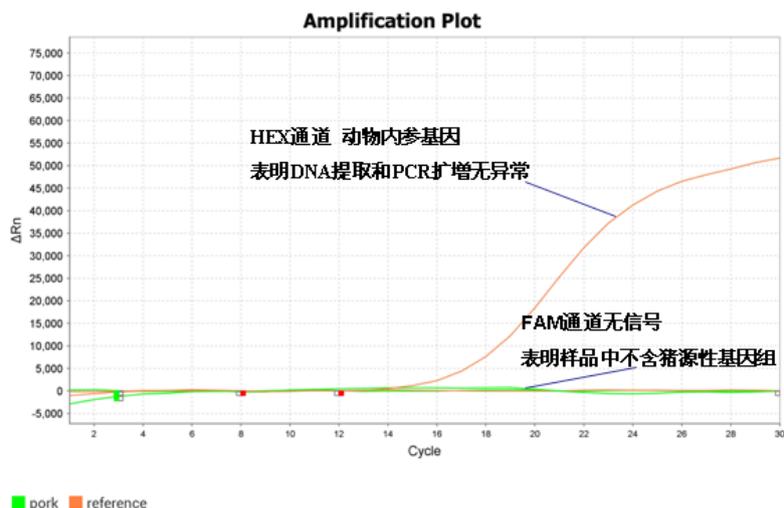
5.2 判定标准

(1) 阳性: FAM 信号扩增曲线明显,表明样品中含猪源性成分。

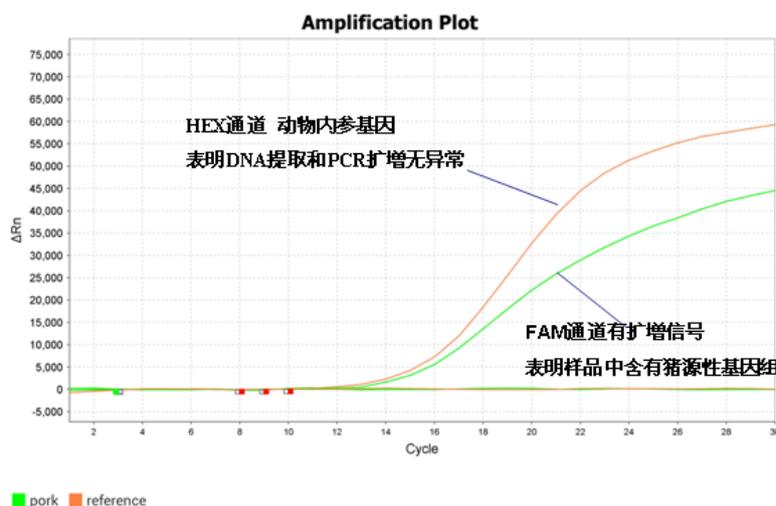
(2) 阴性: FAM 信号无 Ct (平线),表明样品中不含猪源性成分。

实验实例

1. 典型的猪源性阴性样品扩增图片



2. 典型的猪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)

