

天
净
沙
系
列

CAT#:13-138
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

鱼源性成分 PCR 试剂盒

Fish-Derived Material PCR Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本试剂盒用于检测食品或其他材料中是否有鱼的成分。本产品根据 PCR 原理开发，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 一管式操作，用于只需要提供样品即可。 2. 根据鱼线粒体保守基因设计引物，能检测出包括四大家鱼在内的我国 70%的淡水鱼类和 20%的海水鱼类，但不能检测其他非鱼类动物。 3. 快速，整个检测过程（按一个样品计）所需时间仅为 2.0 小时。 4. 只需要普通 PCR 仪和凝胶电泳仪，无需配置贵重仪器设备。 5. 对混合样品中鱼成分的检测下限为 0.5%。 6. 对样品中鱼成分的核酸检测下限为 1.0ng/μL。 7. 本产品只能用于科研，足够 50 次 40uL 体系的常规 PCR。 																																
<p>规格及成分</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>十孔盒包装（去纸托）</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×PCR MagicMix</td> <td>90805</td> <td>1mL（亮黄盖）</td> </tr> <tr> <td>鱼源性成分 PCR 引物混合液</td> <td>13-138yw</td> <td>100 uL（白盖）</td> </tr> <tr> <td>鱼源性成分 PCR 阳性对照</td> <td>13-138pc</td> <td>50 uL（黄盖）</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>100935</td> <td>1 mL（本色盖）</td> </tr> <tr> <td>天净沙 DNA 释放剂试用装</td> <td>130982</td> <td>50 次（成分见下）</td> </tr> <tr> <td>免 DNA 提取试剂 溶液 A 成分一</td> <td>130982a</td> <td>50 uL（白盖）</td> </tr> <tr> <td>免 DNA 提取试剂 溶液 A 成分二</td> <td>130982</td> <td>100uL（绿盖）</td> </tr> <tr> <td>免 DNA 提取试剂溶液 B</td> <td>130982c</td> <td>400 uL（红盖）</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>13-138sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成分	编号	十孔盒包装（去纸托）	2×PCR MagicMix	90805	1mL（亮黄盖）	鱼源性成分 PCR 引物混合液	13-138yw	100 uL（白盖）	鱼源性成分 PCR 阳性对照	13-138pc	50 uL（黄盖）	超纯水	100935	1 mL（本色盖）	天净沙 DNA 释放剂试用装	130982	50 次（成分见下）	免 DNA 提取试剂 溶液 A 成分一	130982a	50 uL（白盖）	免 DNA 提取试剂 溶液 A 成分二	130982	100uL（绿盖）	免 DNA 提取试剂溶液 B	130982c	400 uL（红盖）	使用手册	13-138sc	1 份
成分	编号	十孔盒包装（去纸托）																															
2×PCR MagicMix	90805	1mL（亮黄盖）																															
鱼源性成分 PCR 引物混合液	13-138yw	100 uL（白盖）																															
鱼源性成分 PCR 阳性对照	13-138pc	50 uL（黄盖）																															
超纯水	100935	1 mL（本色盖）																															
天净沙 DNA 释放剂试用装	130982	50 次（成分见下）																															
免 DNA 提取试剂 溶液 A 成分一	130982a	50 uL（白盖）																															
免 DNA 提取试剂 溶液 A 成分二	130982	100uL（绿盖）																															
免 DNA 提取试剂溶液 B	130982c	400 uL（红盖）																															
使用手册	13-138sc	1 份																															
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-20℃保存，有效期一年。使用本试剂盒提供的阳性对照时，由于其浓度较高，一定要注意不要污染其他试剂和成分。最好在专门的区域操作。</p>																																
<p>自备试剂</p>	<p>DNA 模板</p>																																
<p>使用方法</p>	<p>一、样品 DNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 用自选方法纯化样品的 DNA，本产品跟市场上绝大多数核酸纯化产品兼容。 2. 如果有 N 个样品，则需要进行 N+2 个样品提取，多出的一个用作样品制备阳性对照管、另一个用作样品制备阴性对照管。如果用本试剂盒自带的天净沙 DNA 释放剂试用装。则按下面步骤操作： 3. 配制溶液 A 工作液。以配制 1mL 工作液（足够 10 个样品）为例：在一干净塑料管中加入 10uL 溶液 A 成分一，20uL 溶液 A 成分二和 970uL 超纯水，充分混合均匀即可。溶液 A 工作液可室温放置，但最好在一周内用完，不要长期放置。一 																																

次检测一个样品需要 100uL 溶液 A 工作液，1mL 工作液足够 10 个样品。如果待测样品数量为其他数字，配制的溶液 A 工作液的体积需要做相应的调整。

4. 在标记好的 N+2 个离心管中，加入 1-5mg（半粒芝麻大小）待测样品。在样品制备阳性对照中加入 5uL 阳性对照，在样品制备阴性对照中加入 5uL 水。
5. 在每个管中加入 100 uL 溶液 A 工作液，确保固体样品被溶液淹没，如果是液体样品则震荡混匀。
6. 95℃保温 10 分钟。
7. 待冷却到常温后加入 10uL 溶液 B 并混匀得 DNA 释放液。每个样品得到的 DNA 释放液足够进行 50-100 次 PCR。

二、设置 PCR 反应（40 uL 体系）

8. 在 N+2 个 PCR 管中加入下列成分，下面以样品数为 1 举例（注意：如果第一次使用天净沙 DNA 释放剂，最好每个样品设置两个模板用量的 PCR 反应，两个反应的模板使用量差 10 倍，由此确定最佳用量，以后就用效果最好的那个模板用量）：

成 份	样品(用量 1)	样品(用量 2)	阳性对照	阴性对照
即用型 PCR Mix 3.0	20 uL	20 uL	20 uL	20 uL
鱼源性 PCR 引物混合液	2 uL	2 uL	2 uL	2 uL
制备的样品	18 uL	2 uL	无	无
样品制备阳性对照	不加	不加	2 uL	不加
样品制备阴性对照	不加	不加	不加	2 uL
超纯水	不加	16 uL	16 uL	16 uL

9. 轻柔混匀后上机，按下面参数进行 PCR。

过程	温度	时间
预变性	94℃	5 分钟
PCR 反应 (35 个循环)	94℃	30 s
	67℃	30 s
	72℃	20 s
延伸	72℃	5 分

10. 电泳检测 PCR 产物。本产品提供的 PCR Mix 在扩增结束后可以直接上样，不需要另外再加 loading buffer。预期的 PCR 产物长度为 98bp。阳性对照必须有此条带出现，阴性对照必须无任何扩增，否则实验无效。对没有扩增产物的样品，需要用通用引物（如真核生物专一 PCR 引物，需自备）测试是否有抑制剂或样品是否浓度达到 PCR 的要求，如果通用引物也扩不出来，需要浓缩并再次纯化 DNA

	样品，或者更换 DNA 提取方法，直到通用引物能够扩增出预计大小的片段。
关联产品	食品花生成分 PCR 试剂盒