



羊源性成分核酸检测试剂盒 (实时荧光PCR法) 说明书

【产品名称】

通用名称：羊源性成分核酸检测试剂盒（实时荧光PCR法）

英文名称：Real-time PCR Diagnostic Kit for Rapid Identification of Ovine

【产品货号】MX-T102

【包装规格】24次反应/盒

【运输及保存】

- 1.运输：常温或冷藏运输
- 2.保存：2°C-8°C冷藏保存（长期不用时建议-20°C保存）
- 3.有效期：24个月

【检验原理】

本试剂盒采用实时荧光PCR技术，适用于食品中羊源性成分的体外检测。每个反应体系均含有检测食品中羊源性成分的特异性引物、探针，通过收集PCR扩增产生的荧光信号及对应CT值的范围，完成对羊源性成分的定性检测。

【试剂盒内容】

序号	产品组成	规格
1	PCR 冻干粉	24次反应/管
2	RNase-Free ddH ₂ O	1mL/管×1
3	空白 PCR 管	8管/排×3

【操作步骤】

1.样本制备：

方法①：参照 GB/T 35918-2018所述制备；

方法②：可以使用等效的提取试剂盒。

2.反应体系配制

①从试剂盒中取出试剂到室温，每管加入RNase-Free ddH₂O 575μL，震荡混匀。（如一次用量较少，可分装到离心管中-20°C保存）

②取步骤2①中的23μL反应体系加入到PCR管中。

③取步骤1中提取的2μL DNA样品加入到PCR管中，总反应体积为25μL。

④阳性对照、阴性对照和空白对照体系分别加入相应的阳性对照DNA、阴性对照DNA和RNase-Free ddH₂O 2μL。



3. 荧光PCR反应条件:

阶段	循环数	温度	时间	步骤	荧光信号 [#] 采集
预变性	1	95°C	5 min	预变性	否
Real-time PCR	40	95°C	5 sec	变性	否
		60°C	30-60 sec*	退火	是

*: 使用不同型号仪器进行时间设定时, 请按照仪器使用说明书要求进行实验操作, 一般设定在30 sec。

[#]: 羊源性成分特异性基因标记为FAM, 淬灭基团均为TAMRA。

【结果分析与判定】

空白对照: 无FAM荧光信号检出, 未出现典型的扩增曲线。

阴性对照: 无FAM荧光信号检出, 未出现典型的扩增曲线。

阳性对照: 有FAM荧光信号检出, 出现典型的扩增曲线, Ct值<30.0。

以上需同时满足, 否则本次实验无效。

样品检测结果:

Ct值≥35, 判定结果为阴性;

Ct值<30, 并出现典型的扩增曲线, 判断样品为阳性;

30≤Ct值<35, 并且出现典型的扩增曲线, 则重新提取DNA检测。再次检测结果仍为30≤Ct值<35, 则判定样品为阳性; Ct值≥35, 判定结果为阴性。

【检测方法的局限性】

本试剂盒经验证可对大部分羊的品种进行成分确证, 少部分品种的羊由于序列差异, 存在未检出的可能性; 同时, 样品收集、处理、运送和保存的质量均会对检测结果造成影响。

【注意事项】

1. 实验前请仔细阅读本试剂盒说明书, 严格按操作步骤执行。
2. 试剂盒内各组分在使用前应充分融化混匀并经高速短暂离心后使用。
3. 试剂盒必须避光保存, 所使用的离心管、Tip 头应高压灭菌, 且不含DNase 和 RNase。整个操作过程和 PCR 实验室的软硬件设施应符合卫计委颁发《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》、《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》等法规的要求。并恰当处理试验过程中产生的废物和扩增产物, 防止交叉污染。

本产品仅适用于实验室的工业、科研目的, 不用于临床诊断或治疗。