天净沙系列

CAT#:17-385-w

低温运输，-20℃保存

天净沙

鹦鹉科通用性别测定探针法 PCR 试剂盒

Psittacidae Determination Probe PCR Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

鹦鹉在我们日常生活中十分常见，它在生态、经济和文化等方面都具有重要的价值。鹦鹉科通用是单态性鸟，即雌雄同型，无论是幼鸟还是成鸟都很难从外观形态或其他行为上区分雌雄性别，给鹦鹉行业的从业者带来不便，因此鹦鹉的性别鉴定技术的研究和建立具有十分重要的意义。本产品就是以鹦鹉 CHD（Chromobox-Helicase-DNA Binding Protein，染色体螺旋蛋白）基因为靶点，设计的专门检测鹦鹉性别的探针法 PCR 试剂盒，它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。
2. 引物和探针经过优化，分析灵敏性高，可以达到 100 拷贝/反应。
3. 提供阳性对照，用于扩增对照，排除假阴性实验。
4. 含识别内源性内参的引物和探针，便于排除 PCR 假阴性样本。
5. 特异性高，靶分子的引物和探针是根据鹦鹉科 CHD-W 和 CHD-Z 基因设计，彼此不会发生交叉反应。
6. 可用于定性检测，不推荐用于定量检测。
7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 PCR 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×探针法 qPCR MasterMix(进口)	981201B	500 μL	0.5 mL 本色管
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL	1.5 mL 绿盖管
鹦鹉科通用性别测定 PCR 引物-探针干粉（含内参引物探针）	yp17-385-w	50 次	0.5 mL 棕色管
鹦鹉科通用 CHD-W 基因 PCR 阳性对照（1E4 拷贝/μL）	pc385-chd-w	50 μL	0.5 mL 黄盖管
鹦鹉科通用 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照（1E4 拷贝/μL）	pc385-chd-z	50 μL	0.5 mL 蓝盖管
使用手册	sc17-385-w	1 份	无

注意：引物-探针干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 220 μL 超纯水充分混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

自备物品

样品 DNA。

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 如果有 N 个样品，最好设置 N+2 个提取，多出的一个是制备 PC（样品制备阳性对照），一个是制备 NC（样品制备阴性对照）。可以用确认是阳性的样本作为

阳性对照，用确认是阴性的样本作为阴性对照。

2. 用自选方法纯化样品的 DNA，本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容，也可以选购本公司的免提取核酸释放剂。

二、Probe PCR 反应（20 μL 体系，在样品制备室进行）

3. 如果做只做 1 次重复实验，则标记 N+3 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品，1 个用于 PCR 阴性对照（用水做模板），1 个用于 CHD-W 基因 PCR 阳性对照（直接用本试剂盒提供的 CHD-W 阳性对照为模板），1 个用于 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照（直接用本试剂盒提供的 CHD-Z 阳性对照为模板）。

4. 在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复）：

成分	样品管 N+2 个	PCR 阴性对照	CHD-W PCR 阳性对照	CHD-Z PCR 阳性对照
2×Probe PCR MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
鹦鹉科通用性别测定 PCR 引物-探针混合液（含内参引物探针）	各 4 μL	4 μL	4 μL	4 μL
N+2 个待测样（自带内源性内参）	各 6 μL	不加	不加	不加
鹦鹉科通用 CHD-W 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	不加	不加	6 μL	不加
鹦鹉科通用 CHD-Z 基因 PCR 阳性对照(1E4 拷贝/μL)	不加	不加	不加	6 μL
超纯水	不加	6 μL	不加	不加

5. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 PCR:

过程	温度	时间
预变性	95℃	4 min
PCR 反应（45 个循环）	95℃	15 sec
	53℃	30 sec
	72℃	30 sec (采集 FAM 通道和 Cy5 通道的荧光信号，淬灭基团分别为 TAMRA 和 BHQ3)

三、数据处理

6. 阴性阳性判断：没有 Ct 读数，或 Ct 大于 40 判为阴性结果。有 Ct 读数，Ct 值小于 40，荧光信号有对数增长，有典型扩增曲线判为阳性结果。每个反应管均可得到 FAM 通道和 Cy5 通道的 Ct 数值和对应的阴性和阳性结果。

7. 实验有效性判断：如果样本制备阳性对照管或/和 PCR 阳性对照管的 FAM 通道信号结果为阴性，则整个实验无效，不需要分析数据，需要分析失败原因，可能是操作、仪器和试剂三方面的原因，需要重做扩增或/和核酸制备，也可以直接跟

	仪器和试剂厂家联系。如果样本制备阴性对照管或/和 PCR 阴性对照管的 FAM 通道结果为阳性，说明环境污染，则整个实验无效，不需要分析数据，需要分析污染原因并将污染清除。如果两个阳性对照和两个阴性对照结果正常，说明本次实验有效，可以进入下一步分析。 8. 样本 CHD-W 基因检测有效性判断：如果待测样本 FAM 通道（对应内源内参）的结果为阳性，则无论该样本的 Cy5 通道的结果是阴性还是阳性，该样本 Cy5 通道的结果有效。如果待测样本管 FAM 通道的结果为阴性，Cy5 通道结果也为阴性，则此样品的阴性结果无效。此样品需要重新提取核酸和进行扩增。 9. 性别判断：如果样本同时为有效的 FAM 阳性和 Cy5 阳性，相当于 CHD-W 和 CHD-Z 均为阳性，则为雌性。如果样本为 FAM 阳性和 Cy5 阴性，相当于 CHD-Z 阳性，则为雄性。
关联产品	鹦鹉科通用性别测定染料法 PCR 试剂盒

20251028sxl-ztl