

物种鉴定报告

Species Identification Report

PCR 法物种检测报告

样品信息

样品编号:

客户样本编号	公司编号
SP2/0	

样品数量: 1

样品性状: 细胞系

检测项目: PCR

送检单位: 厦门逸漠生物科技有限公司

1. 摘要

本项目利用一代 (Sanger) 测序的方法, 利用基因组提取试剂盒对客户提供的样品进行 DNA 提取, 通过 PCR 扩增, 琼脂糖电泳检测, 胶回收等步骤, 对扩增的 PCR 产物进行检测及纯化, 使用美国 ABI 公司生产的 3730XL 测序仪对 PCR 产物进行测序。

2. 样品编号

样品编号	样品描述
SP2/0	逸漠库留样细胞

3. 实验材料描述

3.1 主要试剂

试剂名称	试剂来源	cat.No
BM2000 + DNA Marker	博迈德	MD102-01
琼脂糖	Biowest agarose	
2 × Taq Master Mix	苏州诺维赞生物	P111-01
Primer	铂瑞生物	
基因组 DNA 提取试剂盒	天根生化	DP304-02

3.2 主要仪器及器材

仪器名称	仪器来源	cat. No.
PCR 仪	西安天隆科技	Genesy 96T
Positive clone 测序	铂瑞生物技术	

稳压 DNA 电泳仪	天能公司	EPS300
凝胶成像仪	培清科技	JS-780
移液器	大龙公司	
高速离心机	湘仪	TG16-W

4. DNA 提取

提取方法详见天根生化基因组提取试剂盒说明书。

4.1 DNA 质量检测

取 5 μ l DNA 溶液 1%琼脂糖、1X TAE 缓冲溶液电泳 (电压 120~180 V) 检测,单一条带说明 DNA 完整无降解,有明显的条带说明浓度可以满足 PCR 要求;

4.2 分光光度计检测浓度和纯度

取 1 μ l 检 OD 值, OD 260/280 在 1.7~2.0, 说明 DNA 质量较好, 小于 1.7 有蛋白污染, 大于 2.0 有 RNA 污染。一般有少量的蛋白与 RNA 污染不影响普通 PCR。

4.3 引物合成

依据上述参考序列, 使用 Snapgene 软件设计 2 条 PCR 扩增引物, 具体的序列信息如下:

ID	homo	mus	rat
产物大小 (bp)	391 bp	150 bp	196 bp

5. PCR 扩增

5.1 体系 (50 μ l)

名称	体积
5*Primerstar Buffer	10 μ l
dNTP (2.5 mM)	4 μ l
Primerstar HS (1 U/ μ l, Takara)	1 μ l
Primer F (10 μ M)	1 μ l
Primer R (10 μ M)	1 μ l
Template DNA (约 100 ng)	0.2 μ l
补足 ddH ₂ O 至	32.8 μ l

5.2 反应程序:

温度 (°C)	时间	
95	3min	
95	30s	} 30cycle
60	30s	
72	30s	
72	5min	

5.3 凝胶电泳检测条带

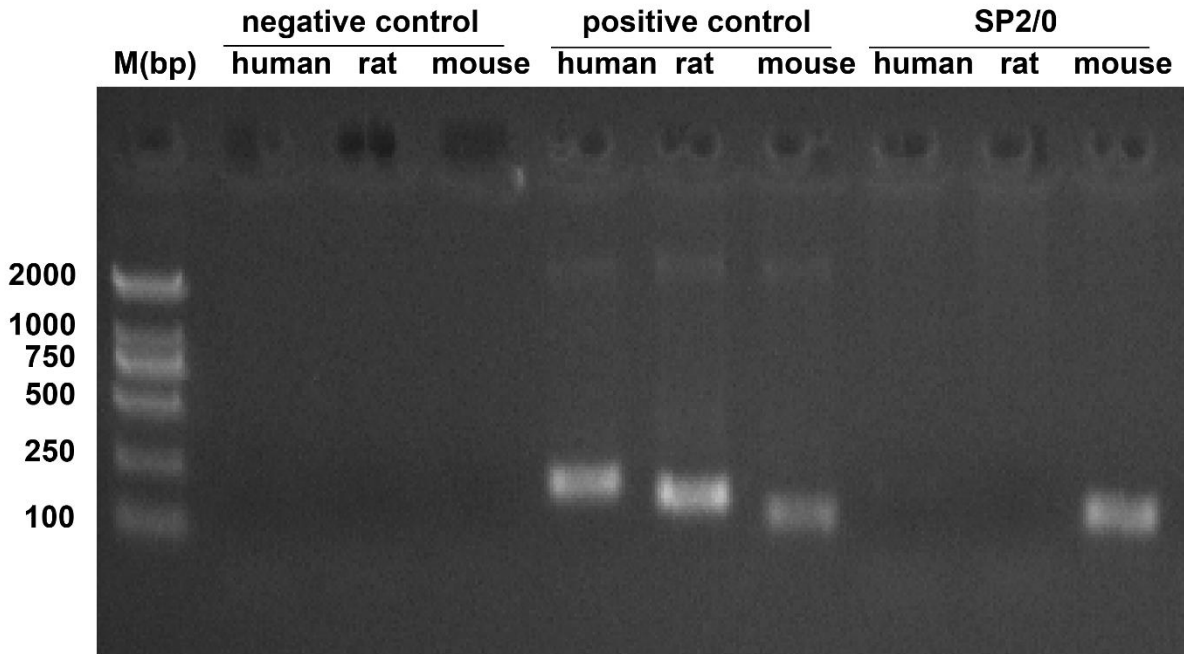
PCR 产物取 5 μ l 1%琼脂糖凝胶电泳, 电泳参数: 150 V, 100 mA, 10~20 min 电泳观察 (见电泳图)。

6. 测序

剩余 45 μ l PCR 产物送测序公司进行一代测序验证, 在 result group 中寻找结果, 并用 sequence analysis 软件进行分析。使用说明: 峰图文件 (.ab1) 可用 Chromas 软件或 SeqMan 软件打开。序列比对可用 SeqMan 软件。

7. 实验结果

7.1 凝胶电泳结果:



7.2 基因分型结果:

>SP2/0

```
CCGTGGCTAGCCGCCGGCATTACTATACTACTAACAGACCGCAACCTAAACA
CAACTTTCTTTGATCCCGCTGGAGGAGGGGACCCAATTCTCTACCAGCATCT
GTTCTGATTCTTTGGGA
```

Descriptions		Graphic Summary	Alignments	Taxonomy				
Sequences producing significant alignments								
<input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected		Download Select columns Show 100 ?						
		GenBank	Graphics	Distance tree of results				
		MSA Viewer						
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus mitochondrial DNA, complete sequence, cell line: P29-69-183	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	16300	AP014540.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain M13 mitochondrion, complete genome	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	16299	KP260516.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus strain 129P3/J mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	207	207	95%	2e-49	99.13%	16299	FJ374639.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain FVB/NJ mitochondrion, complete genome	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	16300	EF108338.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus mitochondrion DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA...	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	2468	LC061932.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain KK/HIJ mitochondrion, complete genome	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	16300	EF108339.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus strain STL isolate IS3782 mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	207	207	95%	2e-49	99.13%	16297	OR840771.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus genome assembly, organelle: mitochondrion	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	16301	OX390165.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus mitochondrion DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA...	Mus musculus	207	207	95%	2e-49	99.13%	2469	LC061935.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus isolate Ker_PjDA03 mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	207	207	95%	2e-49	99.13%	16298	JX945974.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus strain STRA isolate SX4074 mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	207	207	95%	2e-49	99.13%	16299	OR840772.1

实验结果描述：测序结果匹配到小鼠的基因片段，所以该细胞样品种属为

小鼠。