

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
小鼠角膜上皮细胞	

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
小鼠角膜上皮细胞	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

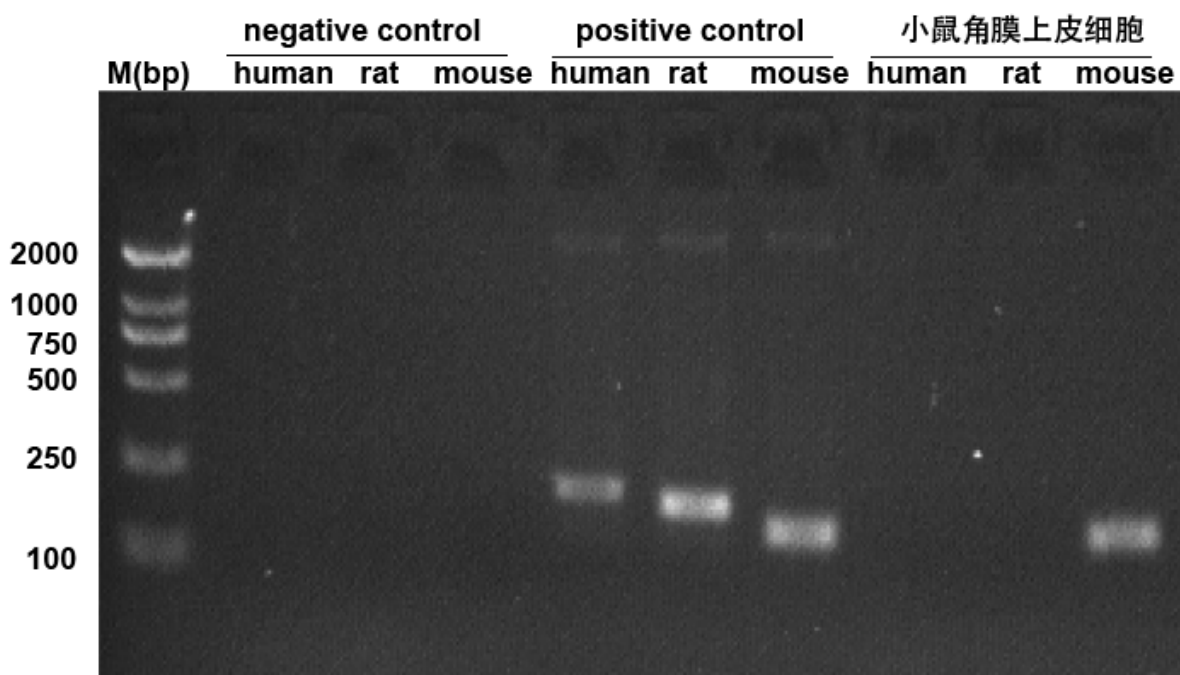
PCR 产物取 5 μ l 1%琼脂糖凝胶电泳, 电泳参数: 150 V, 100 mA, 10~20 min 电泳观察 (见电泳图)。

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。

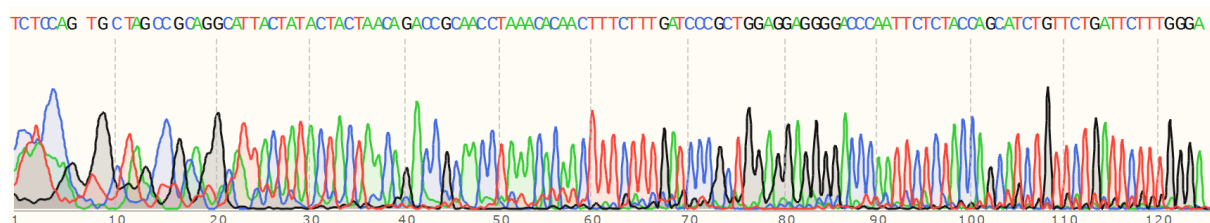
7. 实验结果

7.1 凝胶电泳结果:



7.2 基因分型结果:

>小鼠角膜上皮细胞



Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected 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	222	222	96%	6e-54	100.00%	16300	AP014540.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain M13 mitochondrion, complete genome	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	16299	KP260516.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus strain 129P3/J mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	222	222	96%	6e-54	100.00%	16299	FJ374639.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain FVB/NJ mitochondrion, complete genome	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	16300	EE108338.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus mitochondrial DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr...	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	2468	LC061932.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain KK/HlJ mitochondrion, complete genome	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	16300	EE108339.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus strain STLT isolate JS3782 mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	222	222	96%	6e-54	100.00%	16297	OR840771.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus genome assembly, organelle: mitochondrion	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	16301	OX390165.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus mitochondrial DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr...	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	2469	LC061935.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus isolate Ker_PJDA03 mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	222	222	96%	6e-54	100.00%	16298	JX945974.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus domesticus strain STRA isolate SX4074 mitochondrion, complete genome	Mus musculus...	222	222	96%	6e-54	100.00%	16299	OR840772.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus mitochondrial DNA, including ND2, tRNA-Trp, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr...	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	2470	LC061945.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus strain ME mitochondrion, complete genome	Mus musculus	222	222	96%	6e-54	100.00%	16290	KP260515.1

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。