

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
LMH	

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
LMH	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	Chicken
产物大小 (bp)	391 bp	150 bp	196 bp	197bp

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

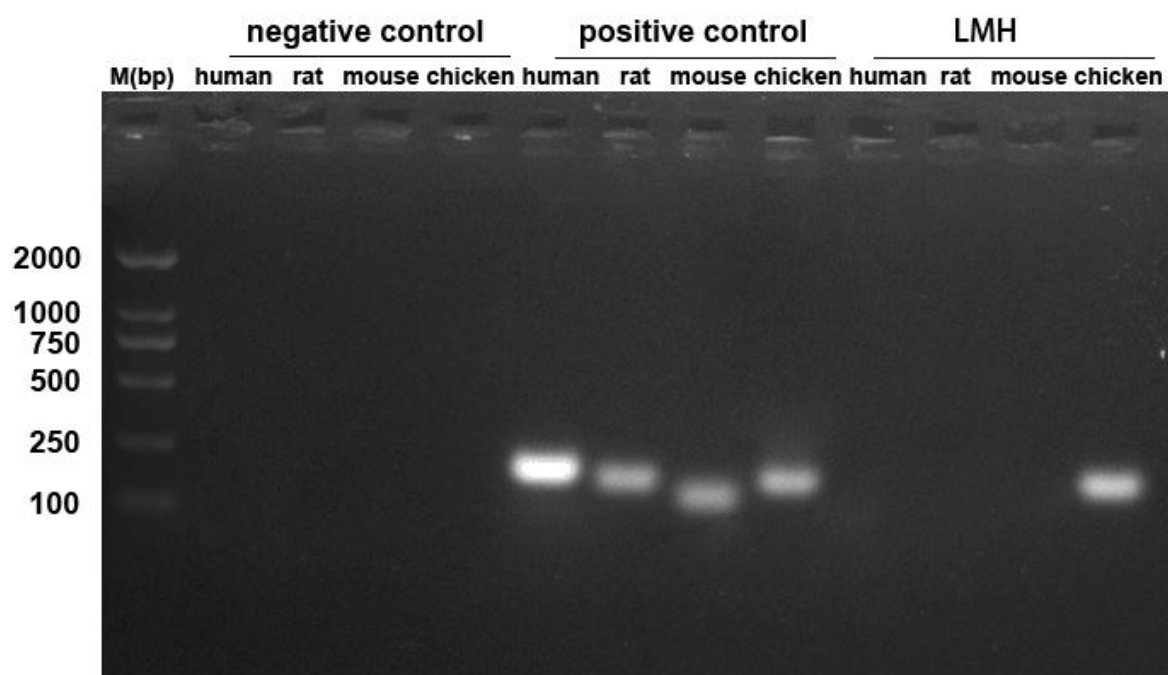
PCR 产物取 5 μ l 1%琼脂糖凝胶电泳, 电泳参数: 150 V, 100 mA, 10~20 min 电泳观察 (见电泳图)。

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。

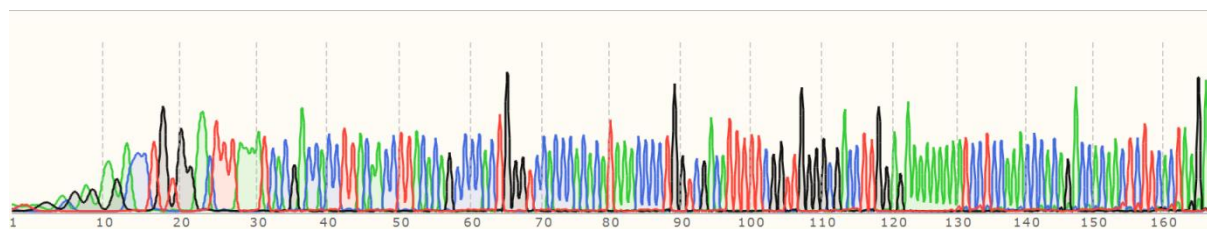
7. 实验结果

7.1 凝胶电泳结果:



7.2 基因分型结果:

>LMH



厦门逸漠生物科技有限公司

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Gallus gallus breed Huainan Partridge chicken mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16785	MT705248.1
✓	Gallus gallus isolate 55986 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16786	MT800330.1
✓	Gallus gallus isolate 55888 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16786	MT800377.1
✓	Gallus gallus isolate 11103 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16783	MT800438.1
✓	Gallus gallus isolate 23636 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16785	MT800462.1
✓	Gallus gallus isolate DC3 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16785	MK163564.1
✓	Gallus gallus isolate ACAD13772_Mindoro_Philippines mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16785	KY039416.1
✓	Gallus gallus isolate ACAD12752_Long_Island_New_Guinea mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16785	KY039394.1
✓	Gallus gallus isolate 020317_13 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	516	QR360149.1
✓	Gallus gallus isolate 23657 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16786	MT800482.1
✓	Gallus gallus isolate 23693 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16787	MT800476.1
✓	Gallus gallus clone S 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	524	KF908855.1
✓	Gallus gallus isolate 55958 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16788	MT800403.1
✓	Gallus gallus breed Yemili mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16790	OP718272.1
✓	Gallus gallus isolate 55940 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16788	MT800402.1
✓	Gallus gallus isolate ACAD14393_Kab_Manokwari_Indonesia mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16785	KY039423.1
✓	Gallus gallus isolate 23686 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16784	MT800425.1
✓	Gallus gallus isolate 11003 mitochondrion, complete genome	Gallus gallus	292	292	98%	7e-75	98.79%	16783	MT800436.1

实验结果描述：测序结果匹配到鸡的基因片段，所以该细胞样品种属为鸡。