

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
ATDC5(逸漠库)	

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
ATDC5(逸漠库)	细胞库复苏细胞

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	物种名	基因 GenBank 登录号	PCR 产物大小
homo-F	Homo	Cox I (J01415)	391 bp
homo-R			
mus-F	Mus	Cox I (J01420)	150 bp
mus-R			
rat-F	Rat	Cox I (NC001665)	196 bp

rat-R

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

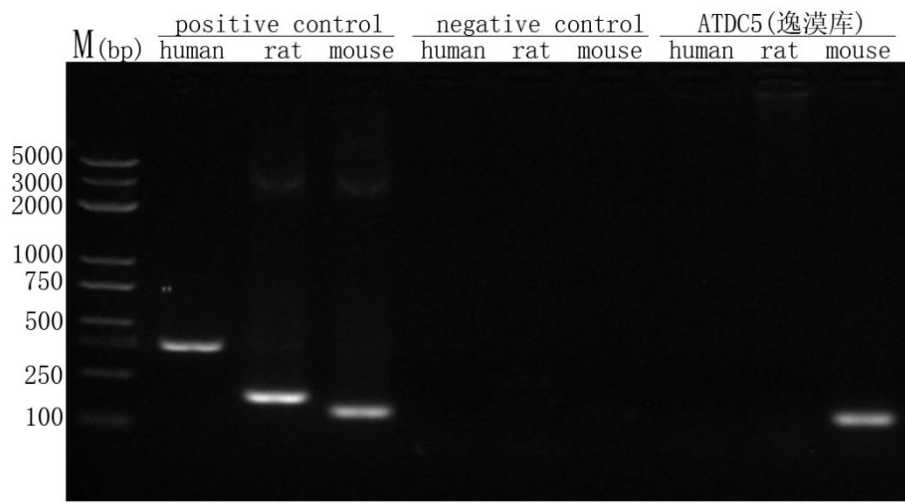
PCR 产物取 5 μ l 1%琼脂糖凝胶电泳，电泳参数：150 V，100 mA，10~20 min
电泳观察（见电泳图）。

6. 测序

剩余 45 ul 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：

>ATDC5(逸漠库)

ATAACCCAGTGGCCTAGCCCGCAGGCATTACTATACTACTAACAGACCGCAA
CCTAAACACAACCTTTCTTTGATCCCGCTGGAGGAGGGGACCCAATTCTCTAC
CAGCATCTGTTCTGATTCTTTGGGACGGCAA

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
✓	Mus musculus domesticus voucher SBP1 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene, partial cds; mitochondrial	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	1260	MN228588.1
✓	Mus musculus isolate M.musculus cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene, partial cds; mitochondrial	Mus musculus	207	207	91%	4e-49	97.56%	636	MH727419.1
✓	Mus musculus mitochondrion, complete genome	Mus musculus	207	207	91%	4e-49	97.56%	16300	KY018919.1
✓	Mus spretus strain STF isolate SX4999 mitochondrion, complete genome	Mus spretus	207	207	91%	4e-49	97.56%	16298	OR840820.1
✓	Mus musculus domesticus strain WLA isolate FB65 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16302	OR840778.1
✓	Mus musculus domesticus strain STRB isolate SX4048 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16297	OR840773.1
✓	Mus musculus domesticus strain STRA isolate SX4074 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16299	OR840772.1
✓	Mus musculus domesticus strain STLT isolate IS3782 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16297	OR840771.1
✓	Mus musculus domesticus strain SPLY isolate SX5347 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16297	OR840767.1
✓	Mus musculus domesticus strain SPLY isolate ISI3755 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16297	OR840766.1
✓	Mus musculus domesticus strain SOTT isolate ISI6705 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16297	OR840765.1
✓	Mus musculus domesticus strain DOT isolate FB30 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16299	OR840747.1
✓	Mus musculus domesticus strain DMZ isolate SX4552 mitochondrion, complete genome	Mus musculus d...	207	207	91%	4e-49	97.56%	16299	OR840746.1

实验结果描述：测序结果匹配到小鼠的 **Cox1** 基因片段，所以该细胞样品种属为**小鼠**。