

微芯片电泳仪 MultiNA 对 10 类 13 种肉品种的同时鉴定

MultiNA-019

摘要：本文针对常见的被掺假肉牛肉、羊肉、鹿肉和驴肉及通常的掺假成份猪肉、禽肉（鸡肉、鸭肉）、犬科肉（狗肉、狐狸肉和貉子肉）、马肉、猫肉、鼠肉等设计特异性 PCR 引物，多重 PCR 扩增后，微芯片电泳 MultiNA 检测扩增产物，结果显示可以同时快速鉴定出 10 类 13 种肉的品种。

关键词：MultiNA 多重 PCR 多肉种同时鉴定 猪肉 牛肉 羊肉 鸡肉 鸭肉 马肉 狐狸肉 狗肉 貉子肉 猫肉 鼠肉 鹿肉 驴肉

数据提供单位：中国肉类食品综合研究中心

目前，市场上的肉品种掺假事件被不断地曝光，“挂羊头卖狗肉”已经严重损害了消费者的切身利益和身体健康。相对于传统的视觉、味觉的鉴别方法，分子生物学 PCR 手段对肉品种的鉴定灵敏度高，可靠性强。PCR 检测手段的实现需要先知晓肉的种类，从而根据其特异性基因序列设计 PCR 扩增引物，扩增其特异性基因，电泳检测扩增产物而实现品种鉴定。最近作为掺假成分的肉的种类越来越多，为了准确地鉴定掺假肉的种类，

需要建立多种肉品种的同时鉴定方法，实现未知样本中动物源性成分的快速检测。为此，这里应用多重 PCR 方法，结合岛津微芯片电泳仪 MultiNA 建立了同时检测牛肉、羊肉、猪肉、禽肉（鸡肉、鸭肉）、犬科肉（狗肉、狐狸肉和貉子肉）、马肉、猫肉、鼠肉、鹿肉和驴肉。此方法操作简单，可快速地实现 10 类 13 种肉品种的同时鉴定。

实验部分

1.1 仪器

微芯片电泳 MCE-202 MultiNA

1.2 试剂和样品

DNA-500 Reagent Kit for MultiNA(岛津制作所, Code: 292-27910-91);

SYBR[®] Gold Nucleic Acid Gel Stain (Invitrogen, Code: S-11494);

1×TE Buffer;

25 bp DNA Ladder(Invitrogen, Code: 10597-011);

样品：猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、鸭肉、马肉、狐狸肉、狗肉、貉子肉、猫肉、鼠肉、鹿肉和驴肉；

PCR 引物：根据基因序列，对牛、驴、犬科（狗、狐狸、貉子）、鹿、马；猫、猪、鼠、羊、禽（鸡、鸭）设计特异性 PCR 引物。引物分为 2 组，第 1 组包括牛、驴、犬科（狗、狐狸、貉子）、鹿、马的 PCR 引物混合物，第 2 组包括猫、猪、鼠、羊、禽（鸡、鸭）的 PCR 引物混合物。

1.3 实验方法

采用核酸提取仪对肉样品的 DNA 进行提纯，纯化后执行多重 PCR 扩增反应，其产物进入微芯片电泳仪 MultiNA 进行测定。根据理论产物片段大小，实验中选用 500 bp 的试剂盒进行测定。

结果讨论

图1是MultiNA检测多种肉多重PCR产物的凝胶图,不同种类肉的特异性片段被成功扩增并被MultiNA检测出来。

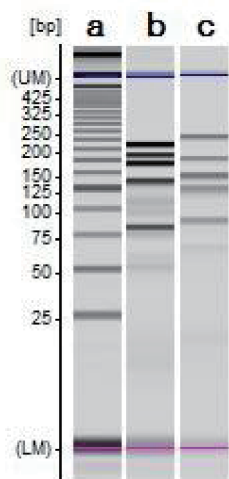


图1 微芯片电泳仪MultiNA检测样品的凝胶图

注: 图中 a, Ladder 标准品; b, 条带由低到高依次为牛肉、驴肉、犬科肉(狗肉、狐狸肉、貉子肉)、鹿肉和马肉; c, 条带由低到高依次为猫肉、猪肉、鼠肉、羊肉和禽肉(鸡肉、鸭肉)。所有引物特异性已被验证。

图2是图1中b泳道的电泳图,检测牛肉、驴肉、犬科肉(狗肉、狐狸肉、貉子肉)、鹿肉和马肉的5重PCR产物。由于MultiNA分辨率高,使得尺寸相差很小的片段也可以被分开,例如犬科肉的167 bp和鹿肉的184 bp,这表明微芯片电泳MultiNA适合对多重PCR产物的检测,可同时鉴定出多个肉类的品种。图3是图1中c泳道的电泳图,检测猫肉、猪肉、鼠肉、羊肉和禽肉(鸡肉、鸭肉)的5重PCR产物。

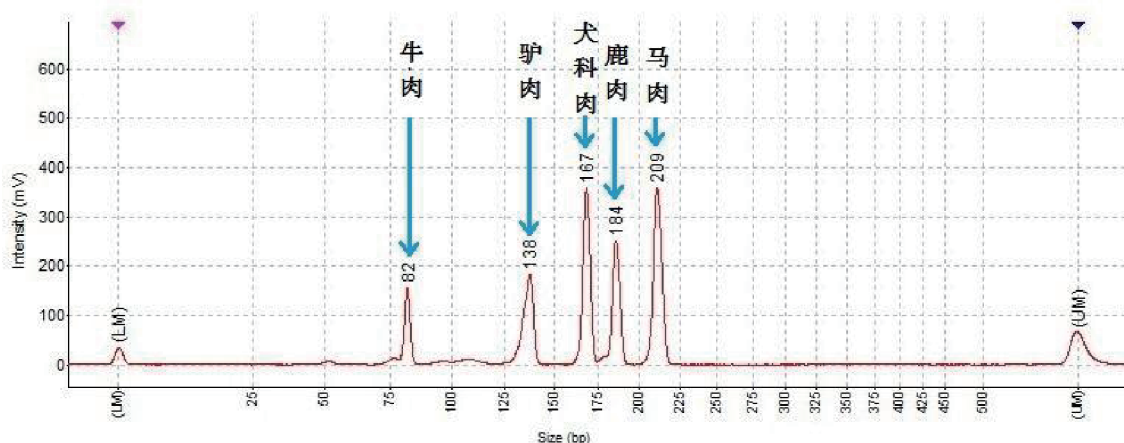


图2 微芯片电泳仪MultiNA检测5种混合肉:牛肉、驴肉、犬科肉(狗肉、狐狸肉、貉子肉)、鹿肉和马肉的电泳图

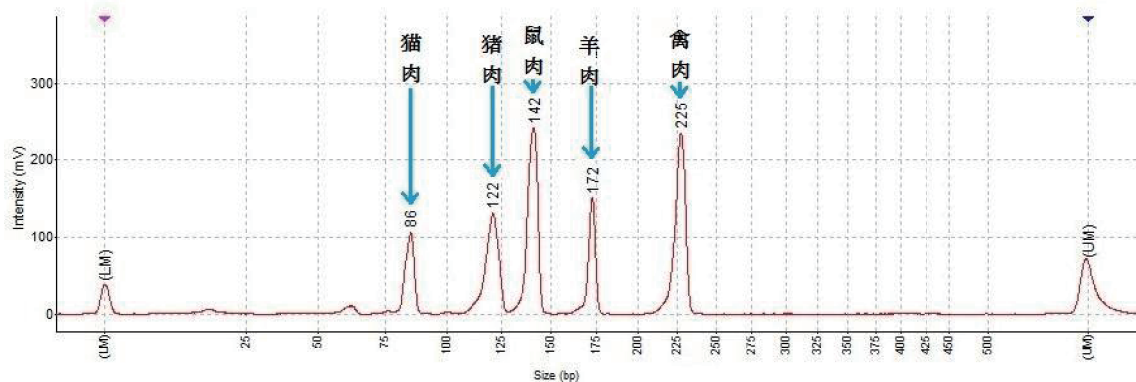


图3 微芯片电泳仪MultiNA检测5种混合肉：猫肉、猪肉、鼠肉、羊肉和禽肉(鸡肉、鸭肉)的电泳图

■ 结论

本文基于分子生物学技术，采用岛津公司微芯片电泳仪 MultiNA 成功建立了同时对 10 类 13 种肉品种定性检测的方法。此方法分析效率高，操作简便，可实现未知样品的多物种同步鉴定，节省时间和人力成本，是掺假肉类品种鉴定有力的分析方法。