

# 应用微芯片电泳仪 MultiNA 对肉类品种的鉴定

## MultiNA-006

**摘要：** 本文利用岛津 Ampdirect®RPlus 试剂盒对鸡肉，牛肉，羊肉，猪肉进行处理，无需精制 DNA，便可进行快速简便的 PCR 过程，使用岛津 MultiNA 检测 PCR 产物，结果显示不仅纯肉可以被鉴定，混合肉也可以实现定性检测。本实验表明应用 MultiNA 可以鉴定不同肉类的品种。

**关键词：** MultiNA PCR 肉类鉴定 鸡肉 猪肉 牛肉 羊肉 定性检测

目前，市场上售卖假羊肉，假牛肉的事件屡次被曝光，不法分子使用价格低廉的鸡、鸭肉，猪肉和香精等原料制作假羊肉，假牛肉来贩卖，严重损害了消费者的切身利益和身体健康。传统的使用视觉、味觉的鉴别方法不能够准确地对肉类品种进行判断，而分子生物学手段针对不同的物种具有其特异性的基因序列，设计 PCR 扩增引物，扩增其特异性基因，电泳检测扩增产物从而实现物种鉴定。此方法灵敏度高，可靠性强，是肉类物种鉴定的有力手段。本文以鸡肉，牛肉，羊肉，猪肉为

检测对象，应用岛津 Ampdirect®RPlus 试剂盒对 4 种纯肉进行处理，无需精制 DNA，可快速简便的进行 PCR 过程，应用岛津 MultiNA 检测 PCR 扩增产物，鸡肉，猪肉，牛肉，羊肉的特征峰都被成功鉴定。另外，将其中 2 种肉及 4 种肉各进行混合，进行多重 PCR，MultiNA 检测多重 PCR 产物，结果显示混合肉各个峰都被成功检测，表明此方法可以对混合肉进行鉴定。

实验结果表明应用本文中的样品处理方法，PCR 扩增，MultiNA 检测可以快速简便地实现肉类品种的鉴定。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

MCE-202 MultiNA

#### 1.2 试剂

1 mol/L-Tris-HCl 缓冲液 (pH8.0) 1 L (nacalai tesque, Code: 35435-11)

0.5 mol/L-EDTA 溶液 (pH 8.0) 1 L (nacalai tesque, Code: 14347-21)

5 mol/L-NaCl 溶液 1 L (nacalai tesque, Code: 31334-51)

10 %-SDS 溶液 100 mL (nacalai tesque, Code: 30562-51)

Proteinase K 粉末 100 mg (SIGMA, Code: P6556)

Ampdirect®RPlus (For International) (WAKO pure chem, Code: 604-21469; Shimadzu corp., Code: S241-08800-99)

IMMOLASE™ DNA Polymerase (BIOLINE, Code: BIO-21046)

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：鸡肉，猪肉，牛肉，羊肉

引物：鸡肉，猪肉，牛肉，羊肉的引物设计如表 1 所示。

表1 鸡肉，猪肉，牛肉，羊肉的引物。

检测基因	引物序列
通用反向引物	5'-gacctcccagcccatcaaacatc-3'
鸡肉正向引物	5'-gatgaagaagaatgaggcg-3'
牛肉正向引物	5'-gtgtaagaccgtaataag-3'
羊肉正向引物	5'-gaatgctgtggctattgtcgca-3'
猪肉正向引物	5'-gatattgtctcaggcg-3'

#### 1.3 分析条件

MultiNA Marker 混合模式：On-chip 混合

## 1.4 样品处理及 PCR 反应体系和条件

样品处理机 PCR 反应体系和条件见图 1 所示。

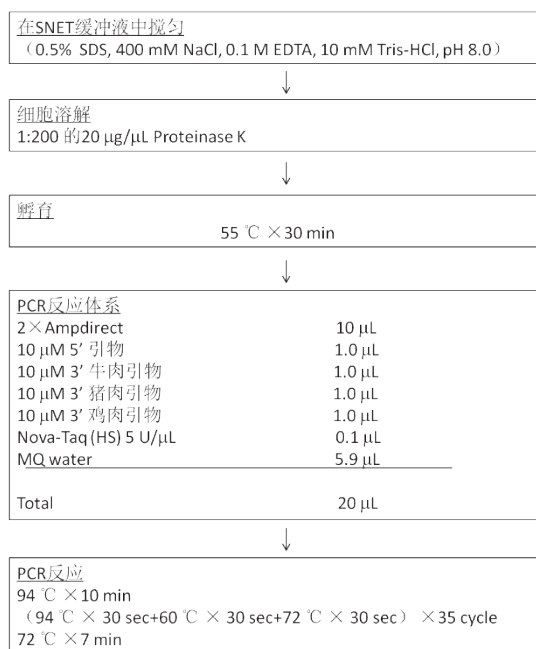


图1 PCR 反应体系和条件

## 1.5 MultiNA 检测

PCR 扩增后，产物进入 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。为了验证测量的准确性，本文同时进行了阴性对照实验，阴性对照的反应体系中不加入 DNA 模板。

### ■ 结果讨论

图 2，图 3 分别是 MultiNA 检测单独的鸡肉，牛肉，羊肉，猪肉及阴性对照的凝胶图和电泳图。结果显示 4 种肉的特异性片段被成功扩增并被 MultiNA 检测片段大小。此实验结果表明采用本方法的 Ampdirect 试剂盒处理样品，由于其可以降低 PCR 阻碍物质的影响，节省了提取核酸的时间，应用 MultiNA 检测 PCR 扩增的特异性片段，可以快速简便地实现肉类鉴定。

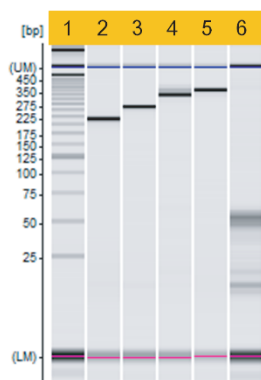


图2 MultiNA检测单独鸡肉，牛肉，羊肉，猪肉的

(1: Ladder, 2: 鸡肉, 3: 牛肉, 4: 羊肉, 5: 猪肉, 6: 阴性对照)

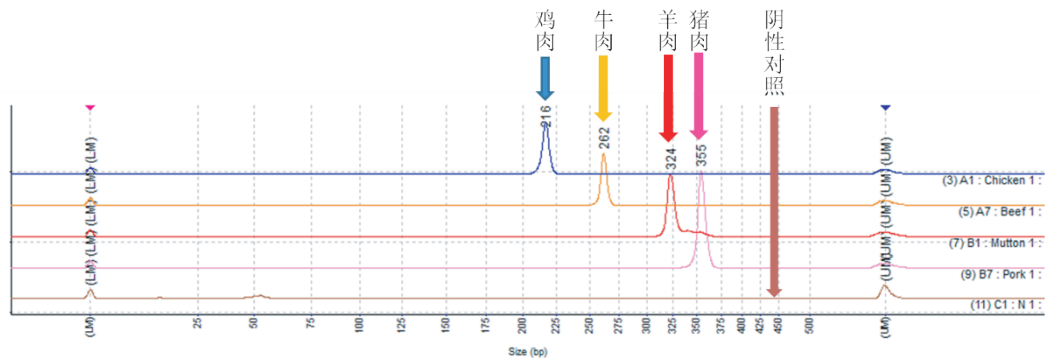


图3 MultiNA检测单独鸡肉，牛肉，羊肉，猪肉的电泳图

图 4-6 分别是鉴定 2 种或 4 种混合肉的电泳图。这些电泳图显示应用 MultiNA 的分子生物学鉴定方法对于混合肉也可以将其各组分定性检测出来。尤其对于片段差很小的基因，MultiNA 的高分辨率也可将其分开。

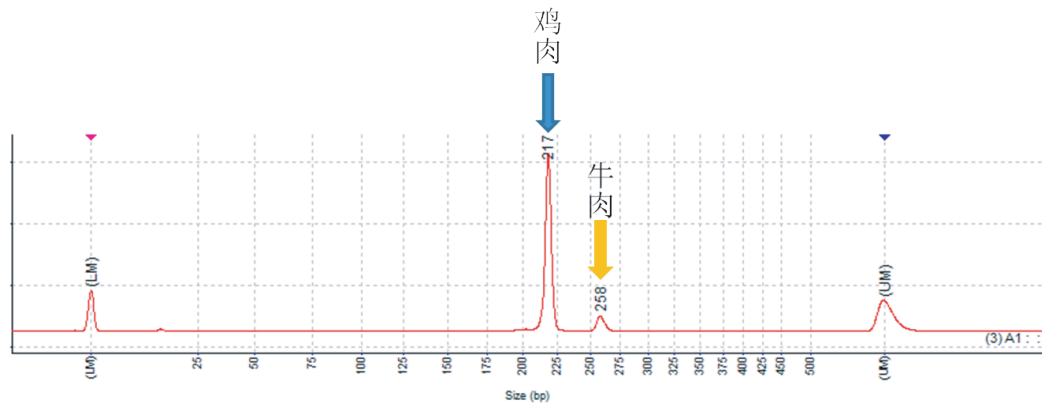


图3 MultiNA检测鸡肉与牛肉的混合肉电泳图

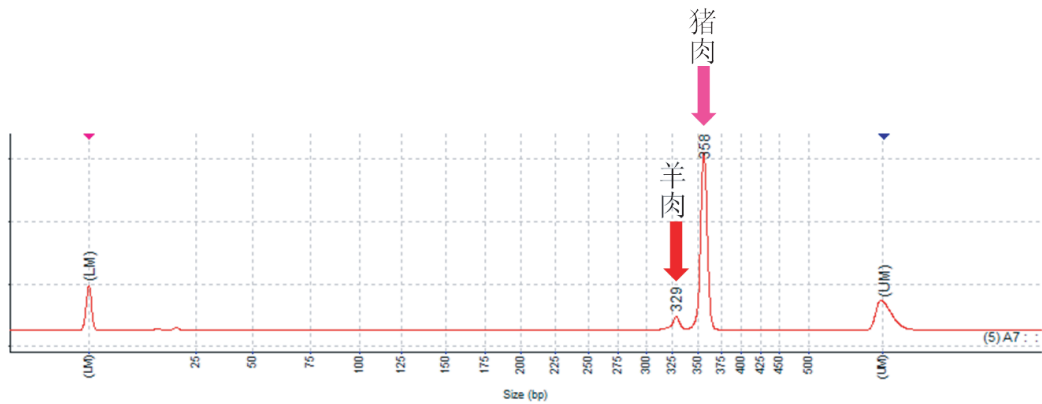


图4 MultiNA检测羊肉与猪肉的混合肉电泳图

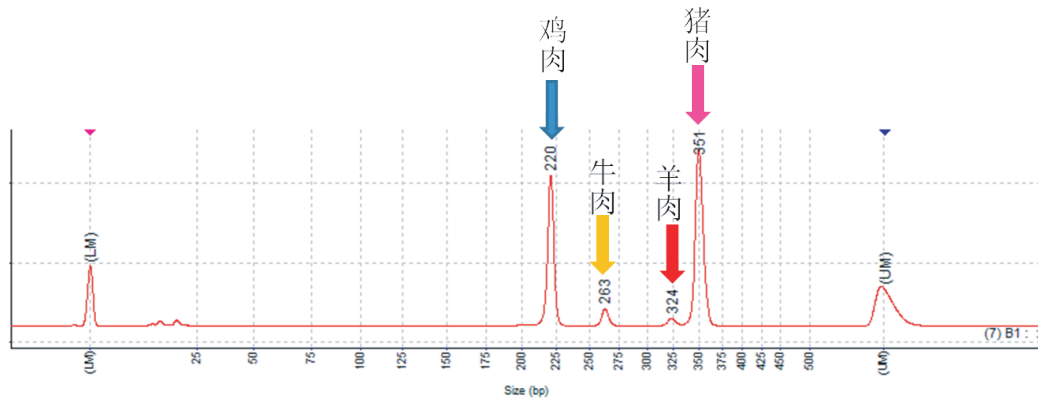


图5 MultiNA检测鸡肉、牛肉、羊肉、猪肉的混合肉电泳图

## ■ 结论

本文基于分子生物学技术，采用岛津公司 MCE-202 MultiNA 成功建立了对肉类品种定性检测的方法。此方法不仅可以鉴定单种肉类，也是混合肉类快速鉴定强有力的分析手段。