

實驗活動（五）

物種鑑定

（教師版本）

I. 實驗目標

1. 以聚合酶鏈反應（PCR）擴增一些對照肉類樣本和未知的肉製品樣本的細胞色素-b 基因；
2. 把 PCR 產物進行凝膠電泳；
3. 以限制酶處理已擴增的細胞色素-b 基因；
4. 把限制酶切割產物進行凝膠電泳；以及
5. 判斷肉製品樣本中有否摻假。

II. 預期學習成果

完成這項學習活動後，學生應能：

1. 概述聚合酶鏈反應（PCR）的原理；
2. 認識聚合酶鏈反應（PCR）在食品行業的應用；
3. 概述 DNA 指紋分析的原理；以及
4. 認識 DNA 指紋分析在辨識肉製品摻假上的應用。

III. 教學筆記

1. 與學生一起探討「背景」部分，或讓學生閱讀這部分以及「關於實驗設計的導引問題」，作為課前活動。
2. 使用「關於實驗設計的導引問題」與學生討論實驗的設計。
3. 根據學校的課時並參考第 IV 部分「實驗活動時間分配」以編排實驗流程。
4. 時刻提醒學生有關實驗各部分的安全預防措施。
5. 與學生一起探討「結果」和「討論」部分。

IV. 實驗活動時間分配

實驗活動		需時	
		課堂內	課堂外 (由實驗室技術員完成)
實驗課一：實驗第(1)部分			
1	製備 PCR 預混液		30–45 分鐘
2	製備聚合酶鏈反應 (PCR) 實驗的樣本	30 分鐘	
3	進行聚合酶鏈反應 (PCR)		90 分鐘
4	將聚合酶鏈反應 (PCR) 產物存放於 4°C		存放至下一節實驗課
實驗課二：實驗第(2)部分			
1	製備瓊脂糖凝膠		30–45 分鐘
2	將樣本加進凝膠凹穴中	10 分鐘	
3	把聚合酶鏈反應 (PCR) 產物進行凝膠電泳	40 分鐘	
4	電泳凝膠圖像處理	10 分鐘	
實驗課三：實驗第(3)部分			
1	進行限制酶切割	40 分鐘	
2	培養及貯存限制酶切割產物		在 37°C 下培養 24 小時，然後在 4°C 下保存至下一節實驗課
實驗課四：實驗第(4)部份			
1	將樣本加進凝膠凹穴中	10 分鐘	
2	把限制酶切產物進行凝膠電泳	40 分鐘	
3	電泳凝膠圖像處理	10 分鐘	
總實驗課時		實驗課一：30 分鐘 實驗課二：60 分鐘 實驗課三：40 分鐘 實驗課四：60 分鐘	

V. 實驗設備、材料和準備工作

A. 實驗第(1)部分：擴增細胞色素-b 基因

a) 設備 (每組)

- 循環變溫加熱器 × 1 (每班)
- 微型離心機 × 1
- 微量移液器 (P200 及 P10) 和無菌移液器吸頭

b) 材料 (每組)

- 0.20 ml PCR 管 × 5
- PCR 管架 × 1
- 預混液 (144 µl) × 1
- 雞肉 DNA 樣本 (5 µl) × 1
- 豬肉 DNA 樣本 (5 µl) × 1
- 牛肉 DNA 樣本 (5 µl) × 1
- 肉製品 DNA 樣本 (5 µl) × 1
- 純水 (不含核酸酶, 5 µl) × 1

- 標記筆 × 1
- 噴壺 (盛有 70% 乙醇) × 1
- 紙巾 × 1 盒
- 生物危害品丟棄袋 × 1
- 廢棄物貯存容器 (盛有 10% 氯漂白水) × 1

c) 準備工作

從肉樣本中提取 DNA (實驗課前一天由教師或實驗室技術員完成)

此 DNA 提取實驗需要使用 Qiagen 公司的教學套裝「QIAamp DNA Mini Kit」，除此套裝之外，可能還需要其他設備或材料（如乙醇及微量離心管）。

本地經銷商：QIAGEN Hong Kong PTE. LTD.

電話號碼：3652-3652

網址：<https://www.qiagen.com/cn/products/top-sellers/qiaamp-dna-mini-kit/#orderinginformation>

設備

- 渦旋混合器 × 1
- 組織勻漿器 × 1

1. 以無菌微量離心管稱取 25 mg 各種測試樣本（即雞肉、豬肉、牛肉和肉製品）。
注意：點心及加工肉製品均適用於此實驗的肉製品樣本。
2. 將 180 μ l ATL 緩衝液分別添加到 4 個微量離心管中。
3. 將微量離心管渦旋混合 15 秒，然後把管放於微型離心機中旋轉 15 秒，使管內所有液體沉於管底。
4. 將 20 μ l 蛋白酶 K 分別添加到 4 個微量離心管中，倒置離心管 3-4 次以混合內容物，利用微型離心機把管內所有液體沉於管底。
5. 把所有離心管放於 56°C 水浴 2-3 小時，每 30 分鐘渦旋一次，直至肉組織被蛋白酶 K 完全消化。
6. 使用組織勻漿器分別把微量離心管中的測試樣本（即雞肉、豬肉、牛肉和肉製品）進行均質化研磨。
7. 利用微型離心機把管內所有液體沉於管底。
8. 將 200 μ l AL 緩衝液分別添加到 4 個微量離心管中，渦旋震盪管中的混合物。
9. 把所有離心管放於 70°C 水浴 10 分鐘，每 3 分鐘將離心管倒置一次，直至肉組織被完全溶解。
10. 利用微型離心機把管中內含物沉於管底。
11. 將 200 μ l 乙醇（ $\geq 96\%$ ）分別添加到 4 個微量離心管中，以最低速度渦旋混合 10 秒，利用微型離心機把管中混合物沉於管底。
12. 根據製造商的說明，將每個樣本加到一個連接有 2 ml 收集管的 QIAamp 微量離心柱（包含在 DNA 提取套裝）中。
13. 將微量離心柱蓋好，在室溫環境下，以 6,000 $\times$ g（或 8,000 rpm）的速度把微量離心柱進行離心處理 1 分鐘。
14. 將每個微量離心柱轉移到新的收集管中，並丟棄濾液。
15. 將 500 μ l AW1 緩衝液分別添加到 4 個微量離心管中。
16. 將微量離心柱蓋好，在室溫環境下，以 6,000 $\times$ g（或 8,000 rpm）的速度把微量離心柱進行離心處理 1 分鐘。
17. 將每個微量離心柱轉移到新的收集管中，並丟棄濾液。
18. 將 500 μ l AW2 緩衝液分別添加到 4 個微量離心管中。
19. 將微量離心柱蓋好，在室溫環境下，20,000 $\times$ g（或 14,000 rpm）的速度把微量離心柱進行離心處理 3 分鐘。
20. 提起微量離心柱，將收集管的濾液倒出，在室溫環境下，以 20,000 $\times$ g（或 14,000 rpm）的速度把微量離心柱進行 1 分鐘離心處理。
21. 將每個微量離心柱轉移到 1 個無菌微量離心管中，並丟棄濾液。
22. 將 50 μ l 無菌蒸餾水分別添加到 4 個微量離心管中，把微量離心管於室溫環境下放置 7-8 分鐘，以 6,000 $\times$ g（或 8,000 rpm）的速度把微量離心柱進行 1 分鐘離心處理。
23. 將提取的 DNA 樣本放 4°C 保存，直至使用。

分配實驗材料（實驗課前由教師或實驗室技術員完成）

1. 將 5 μ l 雞肉 DNA 樣本等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。
2. 將 5 μ l 豬肉 DNA 樣本等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。
3. 將 5 μ l 牛肉 DNA 樣本等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。
4. 將 5 μ l 肉製品 DNA 樣本等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。
5. 將 5 μ l 純水（不含核酸酶）等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。

製備預混液（實驗課前由教師或實驗室技術員完成）

1. 在 0.20 ml PCR 管中，加入以下各項材料至總容量 144 μ l，此容量多於 5 個測試樣本：

a. 純水（不含核酸酶）– 107.25 μ l
b. 10× <i>Taq</i> 緩衝液 – 15 μ l
c. 25 mM 氯化鎂 – 9 μ l
d. 10 mM dNTP – 3 μ l
e. 正向引物 – 4.5 μ l
f. 反向引物 – 4.5 μ l
g. <i>Taq</i> 聚合酶（1 U/ μ l）– 0.75 μ l

2. 為每組學生準備 1 支。

注意：引物可從 Tech Dragon, Integrated DNA Technologies, BGI BIO-Solutions HK Co. Ltd. 或提供定制寡核苷酸合成服務的公司訂購，其他實驗材料和試劑則可從本地生物技術公司購買。

引物序列

Cytb 正向引物：CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA（26 bp）

Cytb 反向引物：GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA（26 bp）

[提示：建議按照表中所列組分的順序將組分加入 0.20 ml PCR 管中，因為：

- (i) 先添加最純淨且最便宜的成分是最佳做法，可以大幅度減少在準備過程中發生任何錯誤的損失；
- (ii) 先添加體積最大的組分是最佳做法，因為隨後的組分會更容易溶解在溶液中。]

B. 實驗第(2)部分：把聚合酶鏈反應(PCR)產物進行凝膠電泳

a) 設備(每組)

- 電泳槽 × 1
- 電泳槽電源 × 1
- 凝膠成像儀或紫外光燈 × 1
- 微量移液器(P10)和無菌移液器吸頭

b) 材料(每組)

- 來自第(1)部分的 PCR 產物 × 5
- PCR 管架 × 1
- 瓊脂糖凝膠托盆及梳子 × 1
- TBE 緩衝液(1 L) × 1
- 核酸染劑(10 µl) × 1
- DNA 梯(5 µl) × 1
- 石蠟封口膜

- 標記筆 × 1
- 噴壺(盛有 70%乙醇) × 1
- 紙巾 × 1 盒
- 生物危害品丟棄袋 × 1
- 廢棄物貯存容器(盛有 10%氯漂白水) × 1

c) 準備工作

製備瓊脂糖凝膠(實驗課前由教師或實驗室技術員完成)

1. 為每組學生準備 1 塊凝膠。
2. 取 1 個錐形瓶，加入 0.20 g 瓊脂糖粉。

[提示：或可在小型稱量紙上稱量粉末，稱量後將其倒入錐形瓶中。]

3. 再加入 20 ml TBE 緩衝液，放進微波爐加熱至瓊脂糖粉完全溶解及溶液變得清澈透明。

[重要訊息：加熱前應避免搖晃TBE緩衝液，因為搖晃可能會將未溶解的瓊脂糖粉末帶到錐形瓶的側壁。這些聚集在側壁的粉末，即使加熱後，亦可能不易溶解。]

[提示：可從生物技術公司購買即用式1X TBE緩衝液，或者可以購買 10X TBE 緩衝液，使用前以蒸餾水或去離子水稀釋至1X。]

[重要訊息：完全溶解的瓊脂糖溶液應是透明並十分清澈。當近距離觀察溶液時，如果發現加熱後溶液中有一些細小的纖維狀物質，這些纖維狀物質其實是未完全溶解的瓊脂糖，這意味着需要進一步加熱。]

4. 以流動的自來水協助溶液冷卻。

[提示：如果瓊脂糖溶液是溫熱的，代表已充分冷卻，過分冷卻反而會導致凝膠過早固化。]

5. 加入 2 μ l 凝膠紅 (gel red) 於溶液中並輕輕混勻。

[重要訊息：傳統的DNA顯影劑具致癌性，而較新型的DNA顯影劑（如凝膠紅和凝膠綠）對人體並無毒性。但仍然建議小心處理凝膠紅，避免直接接觸皮膚；也要避免將凝膠紅加到非常熱的瓊脂糖凝膠溶液中，因為凝膠紅可能會蒸發到空氣中。]

6. 把1個 8-凹穴梳子放進凝膠托盆中，然後將瓊脂糖溶液小心地倒入凝膠托盆，使用 P200 移液器吸頭的末端去除表面的氣泡（即將吸頭倒置使用）。
7. 靜待 25–30 分鐘，讓瓊脂糖溶液固化，變成不透明的凝膠。
8. 如凝膠是在實驗前一天準備，就要將凝膠存放於 4°C TBE 緩衝液中。

分配實驗材料（實驗課前由教師或實驗室技術員完成）

1. 將 10 μ l 核酸染劑等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。
2. 將 5 μ l DNA 階梯等分至 0.20 ml PCR 管中，為每組學生準備 1 支。
3. 將 1 L TBE 緩衝液等分至 1 L 瓶子中，為每組學生準備 1 瓶。

C. 實驗第(3)部分：以限制酶切割聚合酶鏈反應(PCR)產物

a) 設備(每組)

- 微型離心機 × 1
- 微量移液器(P20)和無菌移液器吸頭

b) 材料(每組)

- 來自第(1)部分的 PCR 產物 × 5
- 0.20 ml PCR 管 × 8
- PCR 管架 × 1
- *Bsa*II 預混液(75 µl) × 1
- *Rsa*I 預混液(75 µl) × 1
- 標記筆 × 1
- 噴壺(盛有 70%乙醇) × 1
- 紙巾 × 1 盒
- 生物危害品丟棄袋 × 1
- 廢棄物貯存容器(盛有 10%氯漂白水) × 1

c) 準備工作

製備限制酶預混液(實驗課前由教師或實驗室技術員完成)

1. 在 0.20 ml PCR 管中，用 TANGO 緩衝液將限制酶(即 *Bsa*II 或 *Rsa*I)從 10 U/µl 稀釋至 2 U/µl，即是將 2.5 µl 酶溶液添加到 10 µl TANGO 緩衝液中。
2. 對此管再加入 62.5 µl 無核酸酶的純水至 75 µl，此容量是足夠多於 4 個測試樣本。
3. 為每組學生準備 1 支 *Bsa*II 預混液和 1 支 *Rsa*I 預混液。

注意：限制酶可從 Thermo Fisher Scientific, New England Biolabs 或其他生物技術公司購買；購買時所提供的 TANGO 緩衝液是限制酶的稀釋緩衝液。

[參考資訊：製備足夠 5 個樣本的材料是為了彌補等分樣本過程中所產生的移液誤差；由於不可避免會有移液誤差，如果預混液僅是 4 個樣本的容量，最後一個樣本的溶液將會小於 15 µl。]

[提示：不建議使用渦漩，因為其剪切力可能會使 DNA 斷裂並使限制酶(核酸內切酶)變性。]

D. 實驗第（4）部分：把限制酶切割產物進行凝膠電泳

a) 設備（每組）

- 電泳槽 × 1
- 電泳槽電源 × 1
- 凝膠成像儀或紫外光燈 × 1
- 微量移液器（P10）和無菌移液器吸頭

b) 材料（每組）

- 來自第（3）部分的限制酶切割產物 × 8
- PCR 管架 × 1
- 瓊脂糖凝膠托盆及梳子 × 1
- TBE 緩衝液（1 L） × 1
- 核酸染劑（15 µl） × 1
- DNA 梯（5 µl） × 1
- 石蠟封口膜

- 標記筆 × 1
- 噴壺（盛有 70% 乙醇） × 1
- 紙巾 × 1 盒
- 生物危害品丟棄袋 × 1
- 廢棄物貯存容器（盛有 10% 氯漂白水） × 1

c) 準備工作

製備瓊脂糖凝膠（實驗課前由教師或實驗室技術員完成）

1. 為每組學生準備 1 塊凝膠。

2. 取 1 個錐形瓶，加入 0.40 g 瓊脂糖粉。

[提示：可在小型稱量紙上稱量粉末，稱量後將其倒入錐形瓶中。]

3. 再加入 40 ml TBE 緩衝液，放進微波爐加熱至瓊脂糖粉完全溶解及溶液變得清澈透明。

[重要訊息：加熱前應避免搖晃 TBE 緩衝液，因為搖晃可能會將未溶解的瓊脂糖粉末帶到錐形瓶的側壁。這些聚集在側壁的粉末，即使加熱後，亦可能不易溶解。]

[提示：可從生物技術公司購買即用式 1X TBE 緩衝液，或者可以購買 10X TBE 緩衝液，使用前以蒸餾水或去離子水稀釋至 1X。]

[重要訊息：完全溶解的瓊脂糖溶液應是透明並十分清澈。當近距離觀察溶液時，如果發現加熱後溶液中有一些細小的纖維狀物質，這些纖維狀物質其實是未完全溶解的瓊脂糖，這意味着需要進一步加熱。]

4. 以流動的自來水協助溶液冷卻。

[提示：如果瓊脂糖溶液是溫熱的，代表已充分冷卻，過分冷卻反而會導致凝膠過早固化。]

5. 將4 μ l 凝膠紅 (gel red) 加入溶液中並輕輕混勻。

[重要訊息：傳統的 DNA 顯影劑具致癌性，而較新型的 DNA 顯影劑（如凝膠紅）對人體並無毒性。但仍然建議小心處理凝膠紅，避免直接接觸皮膚；也要避免將凝膠紅加到非常熱的瓊脂糖凝膠溶液中，因為凝膠紅可能會蒸發到空氣中。]

6. 把 1 個 17-凹穴梳子放進凝膠托盆中，然後將瓊脂糖溶液小心地倒入凝膠托盆，使用 P20 移液器吸頭的末端去除表面的氣泡（即將吸頭倒置使用）。
7. 靜待 25–30 分鐘，讓瓊脂糖溶液固化，變成不透明的凝膠。
8. 如凝膠是在實驗前一天準備，就要將凝膠存放於 4°C TBE 緩衝液中。

IV. 「關於實驗設計的導引問題」和實驗第(1)部分的建議答案

1. 為什麼要擴增細胞色素-b 基因？

為了增加細胞色素-b 基因的數量和限制酶切產物的信號強度。

2. 聚合酶鏈反應（PCR）有哪三個主要步驟？

- 變性（denaturation）：DNA 的雙螺旋結構分離；
- 退火（引物連接）（annealing）：引物與 DNA 結合；
- 延伸（elongation / extension）：在引物引導下，DNA 聚合酶添加核苷酸，並延伸 DNA 鏈。

3. 為什麼要在細胞色素-b 基因擴增後進行凝膠電泳？

為了確認基因已成功擴增。

4. 摻假肉製品樣本的限制酶切割產物，經過凝膠電泳後的結果將會如何？

凝膠上將顯示一些 DNA 顯帶，而這些顯帶會與一些食物標籤上未有列出的肉類的限制酶切割產物的 DNA 顯帶的數量和大小匹配。

實驗第(1)部分 [步驟 6]

a. 階段（b）的（i）、（ii）及（iii）步驟的名稱分別是？

- (i) 變性（denaturation）
- (ii) 退火（引物連接）（annealing）
- (iii) 延伸（elongation / extension）

b. 階段（b）的 3 個步驟在聚合酶鏈反應（PCR）中的作用分別是什麼？

變性：DNA 的雙螺旋結構分離；

退火（引物連接）：引物與 DNA 模板透過互補鹼基配對形成雙鏈；

延伸：DNA 聚合酶添加核苷酸，並延伸 DNA 鏈。

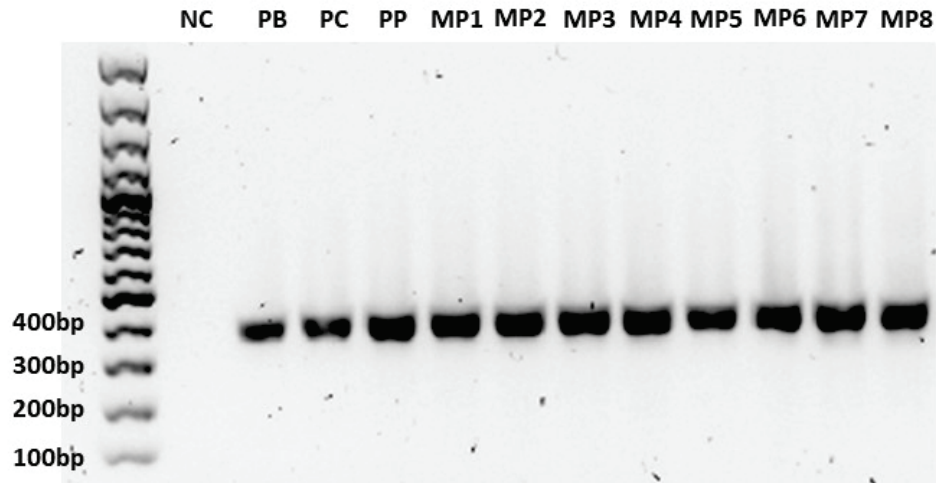
c. 以上的聚合酶鏈反應（PCR）共需時多久？

至少 91 分鐘

V. 結果

實驗第（2）部分

1. 貼上聚合酶鏈反應（PCR）產物的凝膠電泳圖像。



NC：陰性對照；PB：純牛肉；PC：純雞肉；PP：純豬肉；
MP1：牛肉丸；MP2：牛筋丸；MP3：豬肉丸；MP4：蘑菇豬肉丸；
MP5：香腸；MP6：山竹牛肉；MP7：燒賣；MP8：雞塊

2. 你可以從聚合酶鏈反應（PCR）產物 NC 中觀察到任何顯帶嗎？試解釋原因。

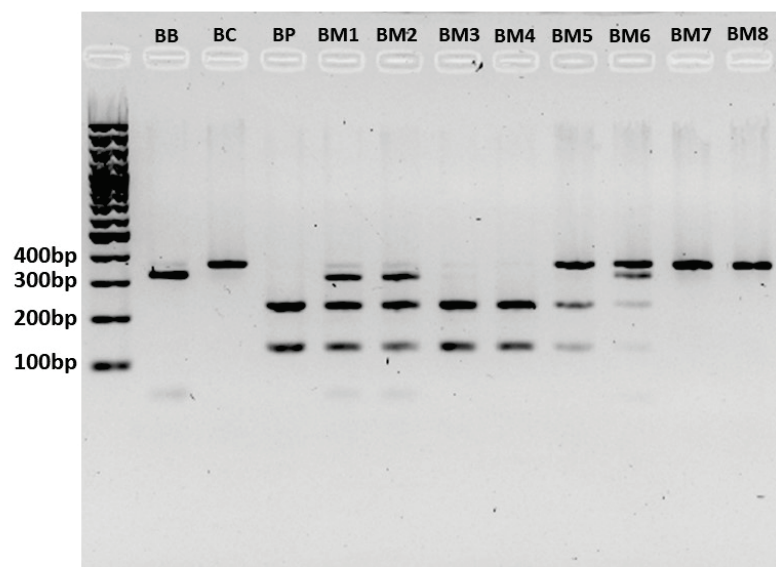
未能從NC中觀察到顯帶，因為樣本中僅提供了水（即沒有DNA樣品）。沒有顯帶即表示樣本的實驗材料沒有被污染。

3. 描述各聚合酶鏈反應（PCR）產物經電泳後在凝膠上的顯帶帶型。從顯帶的位置你可以獲得哪些與聚合酶鏈反應（PCR）產物有關的資料？

每種聚合酶鏈反應（PCR）產物在凝膠上都各有一條顯帶，而顯帶均處於相若的位置。這告訴我們在聚合酶鏈反應（PCR）中擴增的基因（細胞色素-b 基因）在所有肉樣本中的長度都相若（大約是 400 bp）。

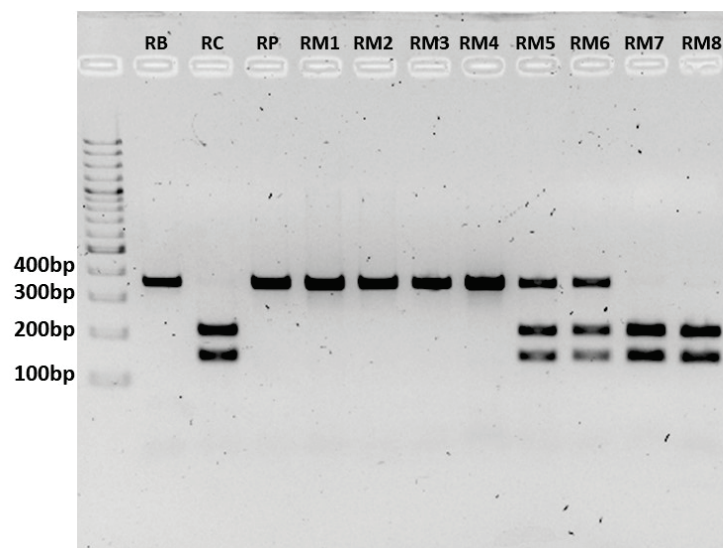
實驗第(4)部分

1. 貼上 *Bsa*II 限制酶切割產物的凝膠電泳圖像。



BB：牛肉；BC：雞肉；BP：豬肉；BM1：牛肉丸；
BM2：牛筋丸；BM3：豬肉丸；BM4：蘑菇豬肉丸；
BM5：香腸；BM6：山竹牛肉；BM7：燒賣；BM8：雞塊

2. 貼上 *Rsa*I 限制酶切割產物的凝膠電泳圖像。



RB：牛肉；RC：雞肉；RP：豬肉；RM1：牛肉丸；
RM2：牛筋丸；RM3：豬肉丸；RM4：蘑菇豬肉丸；
RM5：香腸；RM6：山竹牛肉；RM7：燒賣；RM8：雞塊

3. 觀察凝膠上顯帶的圖樣，並填寫下表。數算每種限制酶切割產物的顯帶數目。通過與 DNA 梯作對比，估算各顯帶中的 DNA 序列的長度。

需用的 限制酶	<i>Bsa</i> II				<i>Rsa</i> I			
限制酶切割 產物	純雞肉 樣本	純豬肉 樣本	純牛肉 樣本	肉製品 樣本	純雞肉 樣本	純豬肉 樣本	純牛肉 樣本	肉製品 樣本
DNA 顯 帶數目	1	2	2		2	1	1	
各顯帶中 DNA序列 的估算長 度(bp)	380 bp	150 bp 和 250 bp	50 bp 和 350 bp		150 bp 和 200 bp	350 bp	350 bp	

4. 肉製品樣本中含有 _____。

	牛肉丸	牛筋丸	豬肉丸	蘑菇豬肉丸	香腸	山竹牛肉	燒賣	雞塊
牛肉	✓	✓				✓		
雞肉					✓	✓	✓	✓
豬肉	✓	✓	✓	✓	✓			

[重要訊息：同類肉製品的成分因品牌而異，上表的結果僅供參考。]

[提示：建議學生在分析 *Bsa*II-限制性酶切割產物的結果之前，先分析 *Rsa*I-限制性酶切割產物的結果。因為豬肉和牛肉經 *Rsa*I 限制性酶切割後，都會產生約 350 bp 的顯帶，這些結果要在分析 *Bsa*II-限制性酶切割產物的顯帶後，才可以進一步區分出來。豬肉經 *Bsa*II 限制性酶切割後，會產生約 150 bp 和 250 bp 的顯帶，而牛肉經 *Bsa*II 限制性酶切割後，會產生約 50 bp 和 350 bp 的顯帶。]

[提示：儘管僅使用 *Bsa*II 限制性酶切割就可以區分所有三種肉，但同時使用 *Bsa*II 和 *Rsa*I 限制性酶切割可以給我們一個更確定的結果。

因為牛肉和雞肉經 *Bsa*II 限制性酶切割後，產生出來的顯帶差異不太明顯，較難清晰地區分這兩個物種。例如經 *Bsa*II 限制性酶切割後，牛肉產生的 50 bp 顯帶通常是比較淺色，容易被忽略或甚至看不出來（因為顯帶鹼基長度愈短，DNA 能與凝膠紅分子結合的機會就愈少，來自凝膠紅的熒光信號自然會愈少）。

另外，牛肉經 *Bsa*II 限制性酶切割後產生出來的 350 bp 顯帶，也難以與雞肉經 *Bsa*II 限制性酶切割後產生出來的 380 bp 顯帶輕易地區分開。因此，單單觀察在大約 350-380bp 位置上出現的顯帶，並不可能區分牛肉和雞肉。由於 50 bp 顯帶的信號強度較低，產生出來的顯帶可能並不明顯；所以必須加上 *Rsa*I-限制性酶切割去區分牛肉和雞肉，因為 *Rsa*I-限制性酶切割產物可以提供非常獨特的帶型。]

VI. 討論

1. 描述純雞肉、純豬肉和純牛肉的限制酶切割產物在電泳後所得的凝膠上顯帶的圖樣。
 - 純雞肉
 - 經 *RsaI* 限制酶切割後，在凝膠上會產生出兩個顯帶，大約在 150 bp 和 200 bp 的位置上。
 - 經 *BsaJI* 限制酶切割後，在凝膠上會產生出一個約 380 bp 的顯帶。
 - 純豬肉
 - 經 *RsaI* 限制酶切割後，在凝膠上會產生出一個約 350 bp 的顯帶。
 - 經 *BsaJI* 限制酶切割後，在凝膠上會產生出兩個顯帶，大約在 150 bp 和 250 bp 的位置上。
 - 純牛肉
 - 經 *RsaI* 限制酶切割後，在凝膠上會產生出一個約 350 bp 的顯帶。
 - 經 *BsaJI* 限制酶切割後，在凝膠上會產生出兩個顯帶，大約在 50 bp and 350 bp 的位置上。
2. 解釋所測試的肉類的 DNA 顯帶帶型的差異。
 - 每種限制酶會識別 DNA 中特定的鹼基序列，來把 DNA 切斷成為片段；
 - 每個測試的肉類樣本的細胞色素-b 基因的鹼基序列存有差異，而這些不同就令限制酶的切割位點數量和位置出現差異；
 - 因此，由限制酶切割而產生的 DNA 片段數量和大小都有差異。
3. 判斷所測試的肉製品樣本有否摻假，並加以解釋。
 - [注意：包含一種肉類以上的肉製品不能被視為摻假，但如果肉製品含有食物標籤上沒有列出的肉類，則視為摻假肉製品。]

VII. 參考資料

Ong, S. B., Zuraini, M. I., Jurin, W. G. et al. (2007). Meat molecular detection: Sensitivity of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in species differentiation of meat from animal origin. *ASEAN Food Journal*, 14(1), 51–59.