快速DNA免核酸提取荧光PCR检测试剂盒

**试剂盒简介：**本试剂盒中采用独特配方，能够快速高效的裂解各种常见样本，无需液氮研磨，无需使用有机试剂，无需重复离心便可获得高质量的DNA。该DNA无需进行纯化可以直接用于PCR、荧光定量PCR、Lamp等扩增。本产品可用于各种植物（烟草、拟南芥、水稻、大豆、油菜、玉米、小麦等）以及各种植物蛋白饮料中基因组DNA的提取。2×荧光PCR MIX 试剂中引入了dUTP/UDG防污染系统，可消除扩增污染对qPCR的影响。

# 试剂盒组成

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **M-DNA01** |
| DNA-Lysis | 1 mL （50T） |
| 2×荧光 PCR MIX | 500 μL ( 50T ) |
| 样品稀释液 | 1.5ml×4 ( 50T ) |

**保存期****：**-20ºC 保存，保存期一年。

**注意：使用前将DNA-Lysis室温充分混匀。**

# 准备的仪器：金属恒温浴、离心机、移液器、PCR仪

# 使用方法

1. **不同样品的处理方法**

**（一）植物样品的处理**

1. 叶片的处理

（1）用眼科剪或叶片取样器剪取1-4mm的叶片。

（2）加入20 μL DNA Lysis。

（3）充分混匀。

（4）置于55℃作用5分钟，加入100µL样品稀释液混匀，取1-2μL作为PCR反应模板。

2.种子和果实的处理

（1）研磨后种子或1-2mm果肉放入离心管中。

（2）加入20 μL DNA Lysis。

（3）充分混匀。

（4）置于55℃作用5分钟，加入100µL样品稀释液混匀。

（5）10,000rpm离心1分钟，取1-2μL作为PCR反应模板。

1. **植物蛋白饮料样品的处理**

（1）吸取20 μL DNA Lysis，放入离心管中。

（2）吸取10μL 待检测样品，加入（1）中，混匀。

（3）置于55℃作用5分钟后，加入100µL样品稀释液混匀。

（4）取1μL作为荧光PCR反应模板。

**二、在DNase free 的离心管中配制PCR反应体系**

|  |  |
| --- | --- |
| **PCR反应体系** | **20 μL体系（推荐）** |
| 2×荧光PCR MIX | 10 μL |
| Forward Primer (10 μM) | 0.4-1μL |
| Reverse Primer (10 μM) | 0.4-1 μL |
| TaqMan Probe | 0.4-1 μL |
| Template DNA | 1 μL |
| ddH2O | 补足至20 μL |

**三、反应程序**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **温度** | **时间** | **循环数** |
| 37ºC | 2min | 1 |
| 95ºC | 2min | 1 |
| 95ºC | 10sec | 40-45 |
| 60ºC | 30sec |

# 注意事项

（1）在进行大量样品检测时，可将本试剂盒的试剂预分装到8联 PCR管，用多通道移液器进行多样本的处理。

（2）取样的细胞量应当适中，浓度不宜过高或过低，处理后溶液应当以透明为宜。扩增细胞DNA 时，取2000个细胞以内即可；扩增病毒基因时需要根据病毒的滴度决定取样的细胞数量。

（3）样品处理过程中应当防止交叉污染，推荐设置阴性样品参与处理过程，以检测环境的污染。

（4）PCR的退火温度可根据引物的预测Tm值减去5℃，或者通过梯度PCR摸索最佳退火温度。

（5）用本试剂盒处理的样品可于-20℃保存 1个月。

（6）为防止试剂盒污染，请勿将不同批号试剂盒混用。