

版本号: KG130828

TIANcombi DNA Lyse&Det PCR Kit

快速DNA提取检测试剂盒

目录号: KG203

产品内容

产品组成	KG203-02 (50 preps)	KG203-03 (200 preps)
缓冲液B1 (Buffer B1)	6 ml	24 ml
缓冲液B2 (Buffer B2)	6 ml	24 ml
2×Det PCR MasterMix	500 µl	2×1000 µl
研磨杵 (Grinding Pestles)	10个	20个

选配仪器

TGrinder电动组织研磨器 (目录号: OSE-Y10)

储存条件

缓冲液B1和缓冲液B2在室温 (15-25℃) 干燥条件下可保存12个月; 2×Det PCR MasterMix在-20℃条件下可长期保存, 多次冻融不会影响活性, 如需经常使用, 可存放于4℃。

产品简介

本试剂盒采用独特的包装体系，包含了快速制备基因组DNA和PCR扩增的所有试剂，适用于从植物组织、种子、动物组织、血液样品、酵母和细菌中一步法提取基因组DNA并用于后续的PCR扩增和检测。整个提取过程不包含去蛋白、去RNA及其它次生代谢物的过程，无需有机溶剂抽提，无需无水乙醇沉淀，简便、快捷，而且质量稳定可靠。

本试剂盒提供的2x Det PCR MasterMix是一种扩增兼容性很强的PCR试剂，无需彻底去除蛋白等杂质，便能进行高效特异扩增，该试剂包含Taq DNA聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR反应的增强剂和优化剂及稳定剂。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，特别适合于高通量的筛选。

产品特点

简单快速：无需液氮，5 min即可快速提取各种组织DNA。

材料广泛：适用于植物叶片、种子、动物组织、血液样品（新鲜血、抗凝血、血凝块、干血斑等）、酵母和细菌等材料。

兼容性强：PCR试剂适用于提取的各种来源样本的DNA扩增。

基因检测：特别适合大规模的基因检测。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
 2. 对于类似于棉花叶片这种含有酚类较多的样品，应严格控制样品处理量不超过0.4 mg，否则会影响PCR反应。
 3. 缓冲液B1和缓冲液B2应放置于室温保存，如放在低温（-20℃或4℃）保存时有沉淀析出，可在37℃水浴中重新溶解沉淀，并摇匀溶液后使用。
 4. 本产品提供的2×PCR Reagent 为2×母液，使用时需加入模板和引物，并加入灭菌水补足体积，使其浓度为1×即可进行反应。
-

操作步骤

1. 第一次使用本试剂盒时，请仔细查看两种缓冲液中是否有结晶析出，如有结晶请将两种缓冲液于室温充分平衡至结晶完全溶解，或在37°C水浴中重新溶解沉淀后使用。两种缓冲液溶解后在室温保存。
2. 取少量样品（具体加入量参考附表1）于1.5 ml的离心管中，加入100 μ l 缓冲液B1，确保缓冲液可以完全覆盖样品。
3. 用研磨杵（天根目录号：WL046）将样品捣碎。

注意：若样品为血液、菌液等液体样，可用研磨杵反复研磨30 sec至样品与缓冲液B1混匀即可；若样品为不易捣碎的植物种子、皮肤组织、结缔组织等，可用研磨杵（推荐配合电动组织研磨器进行捣碎更方便）尽量研磨至溶液浑浊变色即可（如新鲜叶片研磨后溶液由澄清变为绿色，即使溶液中有可见固状物存在也不影响结果）。如果需要更多研磨杵，可以向TIANGEN咨询购买。
4. 样品捣碎后，加入100 μ l 缓冲液B2，震荡混匀，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。
5. 离心结束后，小心吸取100 μ l上清液于另一干净的1.5 ml离心管中作为模板备用。
6. PCR扩增反应。

反应体系

PCR反应体系的建立，20 μ l体系如下：

组成成分	体积
2 \times Det PCR MasterMix	10.0 μ l
正向引物 (10 μ M)	0.5 μ l
反向引物 (10 μ M)	0.5 μ l
模板DNA	1.0 μ l
ddH ₂ O	补至20 μ l

试剂全部加好后，混匀后瞬时离心，将所有试剂收集到管底。

参考反应条件

94°C 3 min	}	35 cycles
94°C 30 sec		
55°C 30 sec		
72°C 1 min		
72°C 5 min		

结果检测

反应结束后取5-10 μl 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

注意：举例仅供参考，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况设定最佳反应条件。

注意：在操作中如发现管壁或管盖上有液体可以瞬时离心将其甩至管底。

附表1

样品名称	处理量
植物叶片	1-5 mg
植物种子	去除种皮后的样品1-5 mg
动物组织	1-5 mg
细菌样品	0.2-0.5 ml菌液收集物
酵母样品	0.2-0.5 ml菌液收集物
血液样品	20 μl
