天净沙系列

CAT#:13-522

低温运输，-20℃保存

TIANDZ

小麦源性成分 PCR 试剂盒

Wheat-Derived Material PCR Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址：www.tiandz.com；电话：400-6765278；电邮：order@tiandz.com

产品及特点

本试剂盒可用于检测食品或其他材料中是否有小麦的成分。现代食品加工工艺极大改变了食材原有的味道、气味、色泽、纹理和质地等特性，因此传统的感官鉴别技术已经无法对食材的真伪进行准确的鉴定。同时部分食材还有致敏性，因此基于基因检测的快速灵敏的食材来源检测技术将对食品监管和安全提供重要的保障。本产品就是为满足这一需求根据 PCR 原理开发的产品，它具有下列特点：

1. 一管式操作，用户只需要提供样品即可。
2. 根据小麦醇溶谷蛋白保守区域设计引物，能专一性检测出样品中的小麦成分，但不能检测其他非小麦成分。
3. 快速，整个检测过程（按一个样品计）所需时间仅为 2.0 小时。
4. 只需要普通 PCR 仪和凝胶电泳仪，无需配置贵重仪器设备。
5. 对混合样品中小麦成分的检测下限为 0.1%，对样品中小麦成分的核酸检测下限为 1.0ng/μL。
6. 本只能用于科研，足够 50 次 40uL 体系的常规 PCR。

规格及成分

成分	编号	十孔盒包装（去纸托）
2×PCR MagicMix	90805	1mL（亮黄盖）
小麦源性成分 PCR 引物混合液	13-510yw	100 uL（白盖）
小麦源性成分 PCR 阳性对照	13-510pc	50 uL（黄盖）
超纯水	100935	1 mL（本色盖）
天净沙 DNA 释放剂试用装	130982	50 次（成分见下）
免 DNA 提取试剂溶液 A 成分一	130982a	50 uL（白盖）
免 DNA 提取试剂溶液 A 成分二	130982	100uL（绿盖）
免 DNA 提取试剂溶液 B	130982c	400 uL（红盖）
使用手册	13-510sc	1 份

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。使用本试剂盒提供的阳性对照时，由于其浓度较高，一定要注意不要污染其他试剂和成分。最好在专门的区域操作。

自备试剂

DNA 模板

使用方法

一、样品 DNA 的制备

1. 用自选方法纯化样品的 DNA，本产品跟市场上绝大多数核酸纯化产品兼容。
2. 如果有 N 个样品，则需要进行 N+2 个样品提取，多出的一个用作样品制备阳性对照管、另一个用作样品制备阴性对照管。如果用本试剂盒自带的天净沙 DNA 释放剂试用装。则按下面步骤操作：

3. 配制溶液 A 工作液。以配制 1mL 工作液（足够 10 个样品）为例：在一干净塑料管中加入 10uL 溶液 A 成分一，20uL 溶液 A 成分二和 970uL 超纯水，充分混合均匀即可。溶液 A 工作液可室温放置，但最好在一周内用完，不要长期放置。一次检测一个样品需要 100uL 溶液 A 工作液，1mL 工作液足够 10 个样品。如果待测样品数量为其他数字，配制的溶液 A 工作液的体积需要做相应的调整。
4. 在标记好的 N+2 个离心管中，加入 1-5mg 固体样品（半粒芝麻大小）或 5uL 液体样品待测样品。在样品制备阳性对照中加入 5uL 阳性对照，在样品制备阴性对照中加入 5uL 水。
5. 在每个管中加入 100 uL 溶液 A 工作液，确保固体样品被溶液淹埋，如果是液体样品则震荡混匀。
6. 95℃保温 10 分钟。
7. 待冷却到常温后加入 10uL 溶液 B 并混匀得 DNA 释放液。每个样品得到的 DNA 释放液足够进行 50-100 次 PCR。

二、设置 PCR 反应（40 uL 体系）

8. 在 N+2 个 PCR 管中加入下列成分，下面以样品数为 1 举例（注意：如果第一次使用天净沙 DNA 释放剂，最好每个样品设置两个模板用量的 PCR 反应，两个反应的模板使用量差 10 倍，由此确定最佳用量，以后就用效果最好的那个模板用量）：

成　份	样品 （用量 1）	样品 （用量 2）	阳性对照	阴性对照
即用型 PCR Mix 3.0	20 uL	20 uL	20 uL	20 uL
小麦源性 PCR 引物混合液	2 uL	2 uL	2 uL	2 uL
制备的样品	18 uL	2 uL	无	无
样品制备阳性对照	不加	不加	2 uL	不加
样品制备阴性对照	不加	不加	不加	2 uL
超纯水	不加	16 uL	16 uL	16 uL

9. 轻柔混匀后上机，按下面参数进行 PCR。

过程	温度	时间
预变性	94℃	4 分钟
PCR 反应 （35 个循环）	94℃	30 s
	59℃	30 s
	72℃	30 s
延伸	72℃	5 分

10. 电泳检测 PCR 产物。本产品提供的 PCR Mix 在扩增结束后可以直接上样，不需

	要另外再加 loading buffer。预期的 PCR 产物长度为 185bp。阳性对照必须有此条带出现，阴性对照必须无任何扩增，否则实验无效。对应没有扩增的样品，需要用通用引物（如真核生物专一 PCR 引物，需自备）测试是否有抑制剂或样品是否浓度达到 PCR 的要求，如果通用引物也扩不出来，需要浓缩并再次纯化 DNA 样品，或者更换 DNA 提取方法，直到通用引物能够扩增出预计大小的片段。
关联产品	小麦源性成分可视化 LAMP 检测试剂盒