

# Plant Direct PCR Kit

## 目录号

BN12071

## 产品组成

组分	规格
2× Plant Direct PCR Mix	5×1.0 mL
Direct Lysis Buffer	15 mL
Dilution Buffer	15 mL

## 保存条件

-20°C保存 24 个月。Lysis Buffer 解冻后可于 2~8°C保存至用完，使用时充分混匀。

## 产品简介

本产品是一款适用于多种类型样品的快速鉴定试剂盒，包含 DNA 粗提取及 PCR 扩增体系。本产品可用于从植物的根、茎、叶等组织样本的直接扩增。可直接将组织用 Lysis Buffer 简单裂解处理后进行 PCR 扩增，无需酚氯仿抽提或柱式纯化等操作，使用简便，极大缩短实验耗时。产品适用于 3kb 以内目的片段的扩增。

本产品所提供的 2×Plant Direct PCR Mix 中，包含经过基因工程改造的 DNA 聚合酶、Mg<sup>2+</sup>、dNTPs 及优化的缓冲体系，具有极高的扩增效率和抑制物耐受度，使用时只需加入模板和引物，并补水至 1×即可进行 PCR 反应，使用本产品扩增的 PCR 产物 3' 端带有一个突出的"A"碱基，纯化后可直接用于 TA 克隆。

## 产品特点

- ◇ 操作简便：无需提取基因组 DNA；
- ◇ 适用广泛：适用于多种植物组织的直接扩增。

## 适用范围

本产品适用于基因敲除分析、转基因检测、基因分型等。

## 注意事项

1. 为了避免样品间出现交叉污染, 需准备多个取样工具, 如需反复使用可在每次取样后用 2%次氯酸钠溶液或核酸清洁剂 (目录号: BN24231) 对工具表面进行清洁;
2. 建议使用新鲜采取的植物组织, 取样量不宜过大, 以避免影响扩增结果;
3. Lysis Buffer 的保存条件为 2~8°C, 若低温保存可能会出现沉淀, 在使用前务必充分溶解;
4. PCR Mix 应避免反复冻融, 短期内多次使用可置于 4°C 保存。

## 使用方法

### 操作示例

#### 1. 基因组 DNA 的释放

组织类型	植物组织
推荐用量	1~3 mm

取适量植物组织样品于干净的离心管中, 向每个离心管中加入 100  $\mu$ L Direct Lysis Buffer, 涡旋震荡后 98°C 下孵育 30 s。裂解上清液吹打混匀后可作为模板直接用于 PCR 扩增。

**注: 模板如需保存, 可将上清液转移至另一个无菌离心管中, 并等量加入 Dilution Buffer 混匀后置于 -20°C 保存, 保存时间为 2 周。**

#### 2. PCR 扩增

将 2 $\times$  Plant Direct PCR Mix 从 -20°C 取出后置于冰上解冻, 上下颠倒混匀后按下表配制 PCR 反应体系 (冰上操作):

组分	25 $\mu$ L 体系	50 $\mu$ L 体系	终浓度
2 $\times$ Plant Direct PCR Mix	12.5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	1 $\times$
Primer 1 (10 $\mu$ M)	1.0 $\mu$ L	2.0 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
Primer 2 (10 $\mu$ M)	1.0 $\mu$ L	2.0 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
裂解产物*	1.0 $\mu$ L	1~2 $\mu$ L	
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 $\mu$ L	Up to 50 $\mu$ L	

\*加入量不应超过体系的 1/10, 加入量过高时, 可能会抑制 PCR 扩增。

#### PCR 条件

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	5 min	1
变性	94°C	30 s	35~40 cycles
退火*	Tm+3~5°C	30 s	
延伸	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5 min	1
-	4°C	Hold	-

\*退火温度：参考引物 Tm 值，建议退火温度设置为引物中 Tm 较小值+3~5°C；

## 常见问题与解决办法

### Q1: 无目的条带?

#### A1:

- 1) 裂解产物过量。选择最合适的模板用量，一般不超过体系的 1/10；
- 2) 取样量过大。将裂解产物稀释 10 倍后扩增，或减少取样量重新裂解；
- 3) 组织样品不新鲜。建议使用新鲜的组织样品；
- 4) 引物质量差。使用基因组 DNA 进行扩增验证引物质量，优化引物设计。

### Q2: 出现非特异扩增?

#### A2:

- 1) 退火温度过低、循环数过高。提高退火温度，减少循环数；
- 2) 模板浓度太高。减少模板用量或将模板稀释 10 倍后扩增；
- 3) 引物特异性差。优化引物设计。