

## 植物组织PCR直接扩增试剂盒

### KM107 100次

#### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KM107(100 次)
Stock A	4°C	0.5 ml
Stock B	4°C	1ml
Buffer N	4°C	5ml
2×Direct Amp PCR Mix	-20°C	1 ml
ddH <sub>2</sub> O(PCR grade)	4°C	10ml

本试剂盒在所需温度储存 12 个月不影响使用效果。

#### 产品介绍:

本制品采用独特的裂解缓冲液快速裂解植物组织, 释放的 DNA 无需纯化便可以作为模板, 用高度耐抑制物的 2 × Direct PCR Mix 扩增, 扩增产物可直接上样电泳。

适用范围: 简单非多糖、多酚植物, 适合高通量筛选, 扩增长度小于 2KB。

#### 操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

1. 配制即用裂解液: 按照 5μl Stock A+ 10μl Stock B+ 85μl ddH<sub>2</sub>O = 100μl 比例配制成即用裂解液。每个样品需要 50μl 即用裂解液, 具体量可以根据样品数量按照比例放大配制即可。
2. 取 50μl 裂解液于 0.2 mL PCR 薄壁管中 (没有 PCR 仪器者也可以用 0.5ml 离心管)。然后置测试材料叶片 (一般 20mm<sup>2</sup> 左右, 可剪成 3/4 条放入) 与裂解液中 (也可以用吸头戳几下帮助裂解), 吹打或者涡旋混匀, 确保叶片碎块浸没在裂解液内。有研磨仪器的, 可以使用仪器研磨样品, 提高裂解效率。
3. 未研磨的样本 98°C 裂解 30min-60 分钟 (建议 PCR 仪上操作)。根据样本不同可以自行调整裂解时间。
4. 进行机器研磨后的样本可根据样本类型 98°C 裂解 5 分钟, 10 分钟, 15 分钟, 20 分钟, 30 分钟的

的梯度时间测试，选出该样本最优的裂解时间（建议在 PCR 仪器上操作）。

5. 取出离心管迅速放冰上，加入 50 $\mu$ l Buffer N，混匀，即可直接用做 PCR 模板或置于 4 $^{\circ}$ C或-20 $^{\circ}$ C保存。
6. PCR 扩增：建议 PCR 条件(以 20 $\mu$ l 反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
裂解混合物模板	1 $\mu$ l	as required
2 $\times$ DirectAmp PCRMix	10 $\mu$ l	1 $\times$
Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M each
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M each
ddH <sub>2</sub> O to final volume	20 $\mu$ l	Not applicable

## PCR 循环

95 $^{\circ}$ C	5-10 min	
94 $^{\circ}$ C	30 sec	} 35-40 cycles
54-60 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	1kb/min	
72 $^{\circ}$ C	5-10 min	

## 注意事项:

1. 如果扩增条带较弱，可以适当增加或者减少模板量，裂解混合物模板一般可以在0.5 $\mu$ l-2 $\mu$ l内调节，注意一般不能超过4 $\mu$ l，如加入太多，里面抑制物反而抑制PCR反应。
2. 如果样品多酚多糖较多，扩增效果不理想，可在20  $\mu$ l PCR反应体系加入2 $\mu$ l 10%PVP40改善效果。
3. 如果非特异扩增较多，可调整退火温度，或者适当增减模板用量。各溶液使用完毕后，应该立刻盖紧盖子，以免PH 改变影响质量。