

Triumfi Plant Direct PCR Kit

目录号

SD311

产品组成

组分	规格
2× Plant Direct PCR Mix	5×1.0 mL
Direct Lysis Buffer	60 mL
Dilution Buffer	20 mL
Positive Control Primer Mix(10 μM each)*	20 μL

*阳性对照引物：用于阳性对照反应。该引物可以以维管植物基因 rcbL 序列为模板扩增出长度为 650 bp 左右的片段，推荐每次实验时至少设置一组阳性对照，Tm：55~60°C。

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、Mg²⁺、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（目录号：TC601）。

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：ND709）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 μ L Direct Lysis Buffer，确保组织浸于裂解液中后 98°C 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：模板建议现裂解现用，如需必要保存，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 μ L 体系	50 μ L 体系	终浓度
2 \times Plant Direct PCR Mix	12.5 μ L	25 μ L	1 \times
Primer 1 (10 μ M)	1.0 μ L	2.0 μ L	0.4 μ M
Primer 2 (10 μ M)	1.0 μ L	2.0 μ L	0.4 μ M
裂解产物*	1.0 μ L	1~2 μ L	
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	Up to 50 μ 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	

退火*	Tm+3~5°C	30 s	35~40 cycles
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。可使用本产品提供的引物预混液 Positive Control Primer Mix(10 μM each)用于阳性对照反应检测样品是否裂解完全；
- 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。