

DirectAmp Plant PCR Kit

植物 PCR 直接扩增试剂盒

目录号: DT103

产品内容:

Components	DT103-01 (100次)
Buffer A	9ml
Buffer B	1 ml
2 × DirectAmp PCR Mix	1 ml

产品储存: 4℃可保存一个月, -20℃长期保存。

制品说明: 本试剂盒采用独特的裂解缓冲体系, 能够快速从烟草、水稻、小麦等植物叶片中释放出基因组DNA, 无需纯化, 直接作为模板, 进行PCR扩增。所含2 × DirectAmp PCR Mix对抑制物耐受性强, 能直接以裂解产物作为模板, 进行高效特异性扩增。特别适合于大批量转基因植株鉴定。本产品含有上样缓冲液, 直接进行电泳。

适用范围: 简单非多糖、多酚植物。

产品特点: 简单: 无须研磨, 无须纯化DNA;

快速: 15min内完成DNA释放;

稳定性好、特异性高: 2 × DirectAmp PCR Mix对抑制物耐受性强, 扩增特异性更高。

适用范围: 转基因植株鉴定、基因克隆、植物基因分型等。

注意事项: 若长期保存, 需保存于-20℃; 反复冻融不超过3次。

操作步骤:

一、DNA制备

1. 称取叶片 1-3mg (切勿过量)。
2. 在 PCR 管中加入 90 μl Buffer A, 浸没样品。
3. 设置 PCR 程序: 95℃ 15 min, 4℃ ∞。
4. 运行程序, 加热样品。此步样品可保存于 4℃。
5. 取出样品管, 加入 10 μl Buffer B, 涡旋均匀。

6. 8000rpm 离心 5min，取上清，直接进行 PCR。

二、PCR扩增

1. 反应体系如下：

Components	Volume		
	20 μ l	25 μ l	50 μ l
2 \times Direc-PCR Mix	10 μ l	12.5 μ l	25 μ l
Forward Primer (10 μ M)	0.4-2.0 μ l	0.5-2.5 μ l	1.0-5.0 μ l
Reverse primer (10 μ M)	0.4-2.0 μ l	0.5-2.5 μ l	1.0-5.0 μ l
Sample	0.5-1 μ l	0.5-1.5 μ l	1-3 μ l
Water	x μ l	x μ l	x μ l

2. 轻轻混匀后，进行PCR反应，反应程序如下：

温度	时间	循环
95 $^{\circ}$ C	3min	1
95 $^{\circ}$ C	0.5-1min	30
根据引物	0.5-1min	
72 $^{\circ}$ C	1min/kb	1
72 $^{\circ}$ C	7min	
4 $^{\circ}$ C	∞	

3. 扩增产物直接进行琼脂糖凝胶电泳检测。

问题和解决方案

问题	解决方案
样品未完全消解	没有影响，释放的 DNA 已足够 PCR 模板使用
PCR 条带很弱或无条带	<ol style="list-style-type: none"> 1. 确保没有漏加试剂 2. 增加 PCR 循环数 3. 设计的引物可能不是最佳选择 4. 尝试不同退火温度和延伸时间 5. 以上方法都没结果，请联系技术支持
PCR 产物多条带	调整退火温度或使用降落 PCR
空白对照出现 PCR 产物或假阳性结果	试剂和样品被污染