

KunGre ®Plant Direct PCR Kit

产品概述

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^{2+} 、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

产品/组分信息

产品名称	规格
2× Plant Direct PCR Mix	5×1.0 mL
Direct Lysis Buffer	40 mL
Dilution Buffer	40 mL

储存方式

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

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

- 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对工具表面进行清洁；
- 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；
- Lysis Buffer 的保存条件为 2~8℃，若低温保存可能会出现沉淀，在使用前务必充分溶解；
- PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 4℃保存。

【备注】 本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。

使用方法

操作示例

1. 基因组 DNA 的释放

推荐组织使用量：

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 μL Direct Lysis Buffer，涡旋震荡后 98 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 保存，保存时间为 2 周。

2. PCR 扩增

将 2 \times Plant Direct PCR Mix 从-20 $^{\circ}\text{C}$ 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 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2 \times Plant Direct PCR Mix	12.5 μL	25 μL	1 \times
Primer 1 (10 μM)	1.0 μL	2.0 μL	0.4 μM
Primer 2 (10 μM)	1.0 μL	2.0 μL	0.4 μM
裂解产物*	1.0 μL	1~2 μL	
ddH ₂ O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	

*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 $^{\circ}\text{C}$	5 min	1
变性	94 $^{\circ}\text{C}$	30 s	
退火*	T _m +3~5 $^{\circ}\text{C}$	30 s	35~40 cycles
延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	30 s/kb	
终延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	5 min	1
-	4 $^{\circ}\text{C}$	Hold	-

*退火温度：参考引物 T_m 值，建议退火温度设置为引物中 T_m 较小值+3~5 $^{\circ}\text{C}$ ；

【备注】 本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。

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。

【备注】 本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。