



DirectAmp Plant PCR Kit

使用说明书

包装量：

目录编号	包装单位
PC3101	100次
PC3102	500次

Components	PC3101	PC3102
Stock A	0.5 ml	2.5 ml
Stock B	1 ml	5 ml
Buffer N	5 ml	25ml
2 × DirectAmp PCR Mix	1 ml	5 ml
ddH ₂ O(PCR grade)	10 ml	50ml

产品储存： 2 × DirectAmp PCR Mix -20℃ 保存，避免反复冻融次数过多，3周内短时间使用可放4℃保存。
其余常温或者4℃保存，有效期12个月。

制品说明： 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 × DirectAmp 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。

特点： 简单，高通量筛选；一般扩增大小<2kb。

操作步骤：

- 配制即用裂解液：** 按照5μl Stock A+ 10μl Stock B+ 85μl ddH₂O = 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。
- 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20mm²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。
- 98℃裂解30min（建议PCR仪上操作），根据情况裂解时间可以在15分钟-1小时内调整。
- 取出离心管迅速放冰上，加入50μl Buffer N，混匀，即可直接用做PCR模板或置于4℃或-20℃保存。
- PCR扩增：

建议PCR条件(以20 μl反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
裂解混合物模板	1 μl	as required
2 × DirectAmp PCR Mix	10 μl	1 ×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM each
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM each
ddH ₂ O to final volume	20 μl	Not applicable

PCR 循环

95°C	5-10 min	
94°C	30 sec	} 35-40 cycles
54-60°C	30 sec	
72°C	1 kb/min	
72°C	5-10 min	

注意事项:

1. 如果扩增条带较弱,可以适当增加减少模板加入量,裂解混合物模板一般可以在0.5 μ l-2 μ l内调节,但是注意一般不能超过4 μ l,加入太多,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 μ l PCR反应体系加入2 μ 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。
4. 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。