

# M5 植物组织直接 PCR 试剂盒

## 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 植物组织直接 PCR 试剂盒	100T	MF284-01
M5 植物组织直接 PCR 试剂盒	500T	MF284-05

### 【储存条件】

2x 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。

### 【产品简介】

本产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 2x 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。

### 【产品组分】

	MF284-01	MF284-05
Stock A	0.5ml	2.5ml
Stock B	1ml	5ml
Buffer N	5 ml	25 ml
2x DirectAmp PCR Mix	1 ml	5 ml
ddH <sub>2</sub> O (PCR grade)	10 ml	50ml

### 【使用方法】

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。
3. 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。
4. 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。
5. 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
2x 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 <sub>2</sub> O to final volume	20 μl	Not applicable

## PCR 循环

95°C	5-10 min	} 35-40 cycles
94°C	30 sec	
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 $\mu$ l-2 $\mu$ l 内调节，但是注意一般不能超过 4 $\mu$ 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  $\mu$ 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。
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。



### 【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。