



快速植物直扩 PCR 试剂盒

Fast Plant Direct PCR Kit(With Dye)

货号	规格	反应次数
BDAG0025-1ml	1ml	100rxn (10ul/rxn)
BDAG0025-5ml	5ml	500rxn (10ul/rxn)
BDAG0025-100ml	100ml	10000rxn (10ul/rxn)

运输：冰袋运输，储存：-20℃保存可保存 24 个月。

试剂组分：

组分名称	货号		
	BDAG0025-1ml	BDAG0025-5ml	BDAG0025-100ml
2×Fast Plant Direct PCR Mix	1mL	5mL	100mL
Buffer RLB18	25mL	125mL	2500mL

产品描述：

本产品为一款可针对不同物种植物叶片、种子等样本进行直接 PCR 扩增的试剂盒，免去了繁琐的核酸提取纯化过程，可用于植物转基因检测及植物基因分型。试剂盒中使用了经过定向改造的直扩型 DNA Polymerase，对植物样本中的 PCR 抑制物具有极强的耐受性，并保持较高的灵敏度和特异性。试剂盒中独特的 Lysis Buffer 可快速裂解各种类型植物组织，释放出基因组 DNA，裂解产物可直接作为 PCR 反应模板使用。

本产品为一种 2×浓度的预混试剂，操作简单并减少了污染的可能性，可实现高通量检测。2×预混试剂中包含了 PCR 反应所需要的 DNA 聚合酶、dNTP、Mg²⁺、缓冲液和增强剂等成分，只需要向其中加入引物和模板即可进行 PCR 反应，同时包含电泳 Loading Buffer 以方便在 PCR 完成后直接进行电泳检测。

产品特点

1. 无需进行核酸提取或纯化，直接对样本进行 PCR 扩增反应；
2. 产品中含有 Loading Buffer ， PCR 产物可直接进行电泳检测；
3. 扩增速度可以达到 30sec/kb，大大缩短检测时间；
4. 扩增产物中 3'端加“A”碱基并纯化后可直接用于 TA 克隆。

实验流程

一、样本制备

1. 植物叶片样品制备

可选择如下方式之一进行样本制备：

1) 组织研磨法

使用组织研磨仪研磨：剪取 3-5 mm 尺寸的新鲜幼嫩的叶片于深孔板(或 EP 管)中，向深孔板(EP 管)中加入 150-200 μ L Buffer RLB18, 加入两颗钢珠(自备)，盖上硅胶盖(或 EP 管盖)，置于组织研磨仪上研磨 1-2 min。然后，置于平板离心机上于 4,000 $\times$ RPM 下离心 1-2 min (建议 4 $^{\circ}$ C 下进行离心)，离心后上清液可直接作为 PCR 反应模板使用。

使用研钵研磨：剪取 3-5 mm 尺寸的新鲜幼嫩的叶片于研钵中，向其中加入 200 μ L Buffer RLB18，用研磨棒充分磨碎后置于离心机上于 12,000 $\times$ RPM 离心 1-2 min (建议 4 $^{\circ}$ C 下进行离心)，离心后上清液可直接作为 PCR 反应模板使用。



3-5mm 示意图

2) 加热裂解法

剪取 2-3 mm 尺寸新鲜幼嫩的叶片于 200 μ L EP 管(或 96 孔 PCR 板)中，向 EP 管(或 PCR 板)中加入 50 μ L Buffer RLB18 (Buffer RLB18 务必淹没叶片)，盖上管盖，在烘箱、水浴锅或者 PCR 仪上于 95 $^{\circ}$ C 加热处理 5-10 min, 然后置于台式离心机上于 12,000 $\times$ RPM 下离心 1-2 min(或平板离心机上于 3,000 $\times$ RPM 离心 1-2 min)，建议 4 下进行离心，离心后上清液可直接作为 PCR 反应模板使用。



2-3mm 示意图

样本制备注意事项:

- a) 请务必参照示意图所示尺寸剪取叶片用量, 并尽量不要取到叶脉;
- b) 为避免交叉污染, 剪取样品的工具每次取样后需洗刷后方可进行下一样品的取样;
- c) 有条件的情况下建议优先采用组织研磨法进行样本制备, 使用组织研磨仪时预先摸索破碎条件, 包括转速/频率和研磨时间, 研磨后看不到大块叶片即为研磨成功;
- d) 样本如需长期保存, 请将上清液(吸取上清是尽量不要吸取到底部的沉淀)置于-20°C保存, 短时间保存(<1 hr)可置于 4°C放置。

2. 植物种子样品制备

1) 组织研磨法

参照表 1 建议的用量, 将植物种子加入到 Buffer RLB18 中进行充分研磨, 然后置于离心机上于 12,000×RPM 下离心 1-2 min, 上清液即可直接作为 PCR 反应模板使用。

表 1 植物种子样本及 Buffer RLB18 用量建议

植物种子	取样量	Buffer RLB18 加入量
水稻	1-2 粒	200-300 μ L
玉米	0.5-1 粒	300-500 μ L
芝麻、油菜等	10 粒	200 μ L

对于需要进行萌发实验的种子, 切取 5-10mg 组织(切勿取到种胚), 置于 150-200 μ L Buffer RLB18 中, 充分研磨后置于离心机上于 12,000×RPM 下离心 1-2 min, 所得上清液即可直接作为 PCR 反应模板使用。

2) 加热裂解法

参照表 1 建议的用量, 将植物种子加入到 Buffer RLB18 中, 置于 95°C处理 10-15 min(针对较难裂解的样本可适当延长加热处理时间), 然后于 12,000×RPM 下离心 1-2 min, 所得上清液即可直接作为 PCR 反应模板使用。

对于需要进行萌发实验的种子, 切取 5-10mg 组织(切勿取到种胚), 置于 150-200 μ L Buffer RLB18 中, 置于 95°C处理 10-15min(针对较难裂解的样本可适当延长加热处理时间), 加热结束后于 12,000×RPM 下离心 1-2min, 所得上清液即可直接作为 PCR 反应模板使用。

二、扩增体系和条件

1. 反应体系制备

Reagent	Reagent Volume (μL per sample)		Final Conc.
	Mix A	Mix B	
2×Fast Plant Direct PCR Mix	10	25	1×
Forward Primer (10 μM)	0.5	1.0	0.25μM
Reverse Primer (10 μM)	0.5	1.0	0.25μM
Template *	2	5	/
PCR Grade H ₂ O	To 20	To 50	/
Total volume per rxn	20	50	

*: DNA 模板加入量建议为反应总体积的 10-20%

2. 反应程序

Step	Temp.	Time	Cycle
Initial Denaturation	95°C	5min	1 Cycle
Denaturation	95°C	10sec	35-40cycles
Annealing	60°C	15sec	
Extension*	72°C	30sec	
Final Extension	72°C	7min	

*: Extension 延伸速度 15-30sec/kb。

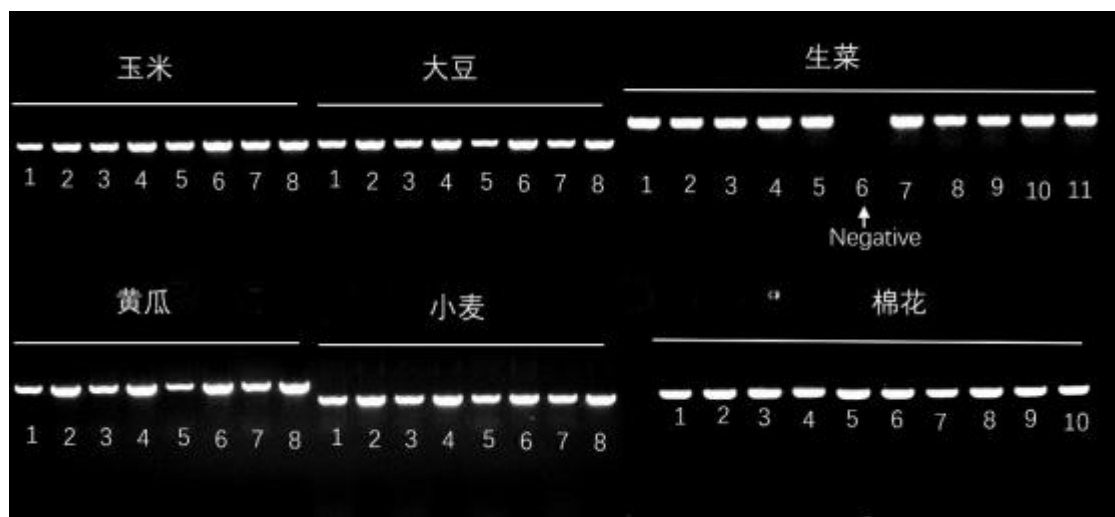
3. 检测

直接吸取 10μL PCR 产物于 1-1.5%的琼脂糖胶上进行电泳检测。

应用实例

使用本试剂盒对玉米、大豆、黄瓜、小麦、生菜、田菁等物种的不同叶片进行直接 PCR 扩增实验，扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果如下图所示：

样本制备方法：研磨法



注意事项

1. 产品解冻需要在冰上进行，并避免反复冻融；
2. 使用前上下轻柔颠倒试剂瓶数次，确保各试剂成份完全混匀，未混匀试剂反应性能会有所下降；
3. PCR 反应配制过程需在冰上进行，各成份加毕后请短暂涡旋混匀并离心；
4. 请仔细阅读本说明，严格按照操作流程和推荐用量使用本产品；
5. 本产品仅供科学研究使用，不可用于临床诊断。