



植物组织PCR直扩试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100124

产品介绍

本试剂盒配备了整套的 DNA 粗提取及 PCR 扩增体系,可直接对不同类型的植物叶片、种子简单裂解后进行 PCR 扩增,无需进行基因组提取等步骤。试剂盒中包含的植物裂解液可用于新鲜或冻存植物样品的裂解,所得裂解产物无需纯化可直接作为 PCR 扩增模板,而且裂解液中加入的特殊保护剂确保裂解样本多次冻融后仍可有效扩增。试剂盒中配有 2×植物直扩 PCR 预混液(含染料),包含特殊修饰的热启动 DNA 聚合酶、dNTPs 以及优化的缓冲体系,对植物中的 PCR 抑制物有极强的耐受性,同时保持了卓越的扩增性能,广泛适用于 5 kb 以内的 DNA 片段扩增。体系中预混有电泳缓冲液和染料,可在反应结束后直接进行电泳。

产品目录

产品名称	规格
植物组织 PCR 直扩试剂盒	100 rxns

产品组成

组分	100 rxns
植物裂解液	20 mL
蛋白酶 K	400 μL
2×植物直扩 PCR 预混液(含染料)	1 mL

注：2×植物直扩 PCR 预混液(含染料)组分中已包含 dNTPs、Mg²⁺、DNA 聚合酶、染料等。

产品用途

可用于转基因植株鉴定、植物基因分型等。

使用方法

1. 植物样本处理与裂解

1.1 裂解液配制

根据需要裂解的植物样品数量配制裂解液,单个样品所需试剂比例如下：

组分	体积
植物裂解液	200 μL
蛋白酶 K	4 μL

注：裂解液应现用现配,且各组分添加完成后应涡旋振荡,充分混匀后再使用。

1.2 植物样本处理

样本类型	植物叶片	植物种子
推荐用量	3~5 mm	5 mm

注：1.植物叶片推荐使用幼嫩叶片,用打孔器从植物叶片中打出直径为 3~5 mm 圆片样品,也可用于剪刀剪出 3~5 mm 正方形的叶片,并转移至 1.5 mL 离心管中;2.植物种子用解剖刀切取直径约 5 mm 的种子并转移至 1.5 mL 离心管中。



1.3 样品裂解

将样品和新鲜配制的裂解液置于 55 °C 水浴中孵育 30 min。为保证 DNA 充分释放，请务必将样品全部浸没至裂解液中。孵育结束后样品可能并未完全消化，属正常情况，不影响使用。

1.4 裂解产物预处理

孵育结束后，将样品置于 95 °C 或沸水浴中加热 5 min 灭活蛋白酶 K。然后将样品 12,000 rpm 离心 5 min，可以立即取上清进行 PCR 反应；或将上清转移至另一个灭菌 EP 管中，并置于 -25 ~ -15 °C 保存备用，保存时间为 2 周。

2. PCR 扩增体系配制

2×植物直扩 PCR 预混液（含染料）完全解冻后上下颠倒混匀，于冰上配制如下反应体系：

组分	20 μL 体积	50 μL 体积
2×植物直扩 PCR 预混液（含染料）	10 μL	25 μL
上游引物（10 μM）	0.5 μL	1 μL
下游引物（10 μM）	0.5 μL	1 μL
裂解产物	0.5~2 μL	1~4 μL
ddH ₂ O	Up to 20 μL	Up to 50 μL

注:1.各组分使用前应充分混匀，配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，然后瞬时离心将反应液集于管底;2. PCR 扩增体系中引物终浓度为 0.2 ~ 0.4 μM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可在 0.1 ~ 0.5 μM 范围内调整引物终浓度;3.裂解产物加入量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。

3. PCR 反应程序设定

Stage	程序	温度	时间	循环数
Stage 1	预变性	95 °C	5 min	1 cycle
Stage 2	变性	95 °C	30 sec	30~35 cycles
	退火	55~72 °C	30 sec	
	延伸	72 °C	30 sec/kb	
Stage 3	彻底延伸	72 °C	5 min	1 cycle

注：退火温度需要根据引物 T_m 值进行调整，一般设置为低于引物 T_m 值 2 ~ 5 °C 即可。

4. PCR 产物电泳

PCR 扩增反应结束后直接取 3 ~ 5 μL 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。本产品中已经预混有电泳缓冲液和染料，因此扩增产物无需再添加 DNA 上样缓冲液。

■ 储存和运输条件

2×植物直扩 PCR 预混液（含染料）于 -25 ~ -15 °C 保存，避免反复冻融；其余组份 2~8 °C 保存。有效期 12 个月，干冰运输。

■ 常见问题及解决方案



常见问题	可能原因	解决方案
扩增产量低或者无法扩增	PCR 反应中加入的裂解液过量；或裂解液中混入了 PCR 抑制物。	减少裂解液用量；或将裂解产物稀释 10 倍后再进行 PCR 扩增；或增大 PCR 反应体系。
	模板加入量不适合。	裂解产物用量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。
	PCR 循环数不够。	增加 PCR 循环数以获得更好的扩增效果。
	循环反应退火温度设置太高。	降低退火温度（每次降低 3 ℃）。
非特异性扩增	PCR 引物错配严重。	重新设计引物。
	PCR 退火温度太低；循环数太多；	升高 PCR 退火温度；减少 PCR 循环数；
	或引物浓度/模板浓度太高。	降低引物浓度或模板浓度。
	未在冰上配制 PCR 反应体系；或配制完成后放置时间太久。	PCR 反应体系的配制在低温下进行； 配制完成后尽快进行 PCR 扩增反应。
	PCR 引物错配。	重新设计 PCR 引物。