



# 植物组织直扩 PCR 试剂盒

## 描述

RAPA3G DNA 聚合酶为经电子重构架的第三代 TaqDNA 聚合酶，第三代 DNA 聚合酶具有高度的杂质耐受性、长片段扩增能力、高扩增成功率、高产量，这些特点使得 RAPA3G 系列产品可用于粗制样品的直接扩增，无需核酸纯化步骤。该 PCR Mix 具有 5' -3' 的聚合酶活性、5' -3' 的外切酶活性、3' -5' 的外切酶活性，产物部分带有“A”尾巴，部分为平末端，因此产物可用于 TA 克隆或平端克隆。

## 特点和用途

- (1) 高杂质耐受性：该 PCR Mix 可直接使用多糖多酚含量极高的叶片等材料进行 PCR 扩增，无需基因组提取。
- (2) 高效的快速 DNA 释放剂：尽管该 PCR Mix 可以直接使用叶片进行扩增，但我们仍然推荐采用 DNA 释放剂进行样本的快速前处理（约需要 5min，可高通量操作）。DNA 释放剂的前处理，使得制备的 DNA 模板可以进行多次、多基因扩增，并长期保存植物 DNA，经 DNA 释放剂处理的样本，在室温条件下放置 1 个月，无任何后续影响，-20 可长期保存。
- (3) 快速 PCR：该酶具有 6kb/min 以上的扩增速度，可显著的缩短 PCR 的扩增时间，在常规测试条件下，10s 的延伸时间可完成 1kb 的基因组 DNA 扩增。
- (4) 粗制样品的扩增能力：扩增能力>1.7kb。
- (5) 高保真性能：该制品包含一定比例的 RAPA HiFi 超保真 DNA 聚合酶，因此其具有一定的保真性能（经蓝白斑测试，其保真性能约为 Taq DNA 聚合酶的 56 倍）。



(6) 热启动，防止非特异性扩增：RAPA3G 系列产品均采用 HaiGene 专有的热启动技术，确保 50 度以下完全无活性，仅有 95 度加热 5min 以后才能恢复其活性，因此可最大限度的提高扩增的特异性，减少非特异性产物的产生。

### 包装：

|                             |       |
|-----------------------------|-------|
| 2×RAPA3G PCR Mix (with Dye) | 1mlX2 |
| 快速 DNA 释放剂 A                | 20 ml |
| 快速 DNA 释放剂 B                | 20 ml |

### 储存

长期储存置于-20℃ 以下，可保存 2 年；短期使用置于 4℃ (3 个月) 保存。

### 使用方法：

#### 1. DNA 释放：

(1) 采用加热法：取 2-3mm 直径叶片（白 Tip 头上沿大小）、1-10mg 果实等材料，放入到 0.2ml EP 管中，加入 50 μl 快速 DNA 释放剂 A，于 PCR 仪中 98℃ 加热 5min，加热完毕后加入 50 μl 快速 DNA 释放剂 B，混合均匀，即可使用。

(2) 采用钢珠研磨法：取 2-3mm 直径叶片、1-10mg 果实等材料，放入到 2ml EP 管中，加入 250 μl 快速 DNA 释放剂 A 和 2-3 粒钢珠，研磨 1-2min 成浆体装。研磨完毕后加入 250 μl 快速 DNA 释放剂 B，混合均匀，即可使用。

#### 2. 按下表配制 PCR 反应体系并混合均匀：



|                             |       |
|-----------------------------|-------|
| 2×RAPA3G PCR Mix (with Dye) | 25 µl |
| 上游引物(10 µM)                 | 2 µl  |
| 下游引物(10 µM)                 | 2 µl  |
| 步骤 1 制备的模板 DNA              | 2 µl  |
| ddH <sub>2</sub> O          | 19 µl |

注意：当扩增片段>5kb 时，引物用量调整为 0.25-0.5µl。

### 3. PCR 扩增循环参数

| 循环数          | 温度       | 时间        |
|--------------|----------|-----------|
| 预变性          | 95 °C    | 5min      |
|              | 95 °C    | 20s       |
| 25-40 Cycles | 50~60 °C | 20s       |
|              | 72 °C    | 4-6kb/min |
| 末延伸          | 72 °C    | 2min      |

请注意：（1）该制品为热启动制品预变性步骤 5min 不可缩

### 3. 请注意：

- （1）该制品为热启动制品预变性步骤 5min 不可缩短，否则 DNA 聚合酶无法恢复活性。
- （2）当扩增片段<1kb 时，延伸时间使用 15s；扩增片段 1-2kb 时,延伸时间使用 45s，扩增片段 2-3kb 时,延伸时间使用 1min，当扩增片段>3kb 时，请按照 2kb/min 的延伸时间进行设置。（3）尽管该酶具有 6kb/min 的延伸速度，但按照 2kb/min 设置延伸时间的条件下，能获得最高的产量。

## 注意事项

- （1）当模板 GC 含量>70%时，请添加 5× Q-Solution。
- （2）当采用全血、血浆等蛋白含量极高的样本时，扩增完毕后可能会有变性的蛋白沉淀，请离心后再进行点样和电泳。

**上海纪宁实业有限公司([www.shjning.com](http://www.shjning.com))所有产品仅供科研使用，不得用于其他用途。**

