

**Dyne Plant Direct PCR kit**

Cat. No.	용량	농도
DYP1580	200 rxns	-

◆ **제품구성**

	Vol. (μl)
Dilution Buffer	10,000 (x 1 ea)
2X Plant PCR MIX	1,000 (x 5 ea)
Control Primer MIX (10 pmol/μl each)	50 (x 1 ea)
Sterile water (RNase free)	1,000 (x 1 ea)

◆ **보관온도**

· -20°C

◆ **제품설명**

· Dyne Plant Direct PCR kit는 식물의 잎으로부터 DNA 정제 과정 없이 바로 PCR을 수행할 수 있다. 본 제품의 구성품 중 2X Plant PCR MIX에는 HOT-Start DNA Polymerase, reaction buffer 및 loading dye가 포함되어 있어 실험과정 중에 발생할 수 있는 문제를 줄임과 동시에 사용상의 편리성을 높였으며, 식물에 존재하는 다양한 PCR inhibitor들로부터 안전성이 높도록 개발되었다. 본 Kit에는 chloroplast DNA의 conserved region을 증폭할 수 있는 control primer가 포함되어 있다.

◆ **표준반응조건**

- RNase 오염을 방지하기 위해 반드시 glove 착용 후 실험한다.
- 제품의 개봉 및 해동: 얼음 또는 lab-top cooler 상에서 해동한다. 해동된 시약은 균일하게 섞어서 사용한다.
- 시료 준비: 어린잎 사용을 권장한다.

- **Sample Handling**

1. 가로와 세로가 1 mm 이하로 식물의 잎을 잘게 자른다.

**TIP**

- 1) 0.35 mm sampling tool 또는 Harris Uni-Core™ 0.5 mm의 사용을 권장한다.
  - 2) 깨끗한 커터칼 또는 면도날을 사용해도 된다.
  - 3) 잎을 옮기기 위하여 100 ul 또는 20 ul 파이펫 팁을 사용하지 않아도 된다.
2. 20 ul Dilution buffer가 들어있는 EP tube에 식물의 잎을 넣은 다음 Dilution buffer가 녹색이 되도록 100 ul 파이펫으로 6-8회 가볍게 찌른다.
  3. 원심분리 후, 0.5 ul를 취하여 50 ul PCR 반응의 주형으로 사용한다.

**주의사항**

1. Direct PCR에 사용되는 상층액은 식물의 형태에 따라 달라질 수 있다.
2. 식물 잎의 양이 많은 경우, Dilution buffer의 양을 50 ul 이상으로 증가시켜 사용한다.
3. Direct PCR이 처음 하는 경우, 최적의 결과가 나오는 Dilution buffer의 양을 설정해야 한다.

- **PCR mixture<sup>a</sup>**

Component	Vol. (μl)	Final Conc.
2X Plant PCR MIX	25 μl	1X
Forward, Reverse Primer	X μl	10 pmol
Diluted sample	0.5 μl	
Sterile water	up to 50 μl	

- **PCR cycles**

PCR step	Temp.(°C)	Time	Number of cycles
Initial denaturation <sup>a</sup>	95°C	10 min	1
Denaturation	95°C	30 sec	30~40
Annealing <sup>b</sup>	55~65°C	30 sec	
Elongation	72°C	1 min/kb	
Final elongation	72°C	5 min	1

<sup>a</sup> Chemically modified PCR DNA polymerase의 충분한 활성을 위해 initial denaturation 시간을 최소 10분 정도로 진행하여야 한다.

<sup>b</sup> Annealing 온도는 사용하는 primer의 Tm보다 5~10°C 낮게 설정할 것을 추천한다.

◆ **Troubleshooting**

PCR product의 수율이 낮은 경우	
1	Control primer와 검증된 주형 DNA를 이용하여 PCR 진행하여 Plant PCR Mix가 문제가 있는지 확인한다.
2	Dilution buffer를 이용하여 샘플을 1/10 또는 1/100 더 희석한 후 0.5 ul를 PCR 반응의 주형으로 사용한다.
3	샘플의 크기를 줄 줄이거나 Dilution buffer의 양을 증가시킨다.
비특이적인 PCR product가 보이는 경우	
1	Cutting tool을 2 % sodium hypochlorite로 세척한 후 샘플을 준비하고, Negative control을 포함시켜 PCR을 진행하여 오염이 되었는지 확인한다.
2	위로 번지는 현상이 보이는 경우, primer의 양을 줄여서 PCR 반응을 진행한다.
3	PCR cycle을 줄여서 PCR을 진행한 후에도 비특이적인 PCR product가 보이는 경우에 새로운 primer를 디자인하여 사용한다.

◆ **제품종류**

Cat. No.	용량	농도
DYP1580	200 rxns	-