



**ZOMANBIO**

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

**Plant Direct PCR Kit**  
快速植物PCR直扩试剂盒  
*Catalog # ZT501*

版本 2021-10

**试剂盒组成:**

组成	保存条件	ZT501-1 40次	ZT501-2 200次
2×Plant Direct Master Mix	-20°C	1ml	1ml×5
Plant Direct Lysis Buffer	-20°C	1ml×2	10ml

**产品介绍:**

本产品适于非多糖、多酚类植物叶片、种子等直接扩增。使用定向改造的直扩DNA聚合酶，对植物中PCR抑制物有极强的耐受能力，适用于4kb以下的DNA片段扩增。本产品使用独特的裂解缓冲液裂解植物组织（新鲜或冻存），所得裂解物无需纯化即可作为模板。

**质量控制:**

SDS-PAGE检测纯度大于99%；经检测无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余DNA；能有效地扩增植物（小麦，玉米，水稻等）基因组中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

**样品处理:**

**叶片：**建议使用幼嫩叶片，推荐使用直径5mm的打孔器获取样品；

**种子：**建议使用淀粉含量较低的部位，推荐使用解剖刀取体积约5-10mm<sup>3</sup>的样品；

1). 将样品**研磨破碎**后加入50μl Plant Direct Lysis Buffer（若所取样品面积较大或较小，可按比例增大或缩小Plant Direct Lysis Buffer 使用量）

2). 95°C-100°C处理3-5min（若样品较难裂解，可延长95°C-100°C处理时间，但不宜超过20min）

3). 12000rpm离心1-2min，取1-3μl上清加入PCR反应体系作为模板。（不同植物的叶片抑制物释放量不同，请摸索您样品的最佳模板加入量）

### 注意：

1. 不是叶片越大越好，越大的叶片释放抑制PCR反应的成分越多，通常 $4\text{mm} \times 4\text{mm}$ 的植物嫩叶就可以了。
2. 对于部分容易裂解的样品（且片段容易扩增），可以不进行研磨破碎。（以实验效果为准，不推荐）
3. 裂解处理后的粗品仅可 $4^\circ\text{C}$ 短期储存（一周），若需要长时间储存，可将上清液转移到新的管中置于 $-20^\circ\text{C}$ 储存。

### 反应体系：

20 $\mu\text{l}$ 反应体系如下（可根据比例放大或缩小反应体系）：

植物模板	1-3 $\mu\text{l}$
Primer 1 (10 $\mu\text{M}$ )	0.5 $\mu\text{l}$
Primer 2 (10 $\mu\text{M}$ )	0.5 $\mu\text{l}$
2 $\times$ Plant Direct Master Mix	10 $\mu\text{l}$
ddH <sub>2</sub> O	补足至20 $\mu\text{l}$

### 反应程序：（建议退火温度设置为T=Tm-2）

94 $^\circ\text{C}$	5 min
94 $^\circ\text{C}$	15 sec
50 $^\circ\text{C}$ -72 $^\circ\text{C}$	15 sec
72 $^\circ\text{C}$	30sec/kb
72 $^\circ\text{C}$	5 min

} 32-40 cycles

### 注意事项：

1. 建议以纯化的基因组DNA做阳性对照，确保引物及操作等无误。
2. 对于复杂样品或扩增产率较低的样品可适当提高扩增循环数。
3. 植物裂解粗品中存在抑制PCR反应的成分，加入过多的模板不利于扩增反应，不同植物的叶片抑制物释放量不同，请摸索您样品的最佳模板加入量。