



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。

版本 2021-10

Plant Direct PCR Kit

快速植物PCR直扩试剂盒

Catalog # ZT501

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℃	1ml	1ml×5
Plant Direct Lysis Buffer	-20℃	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5-10mm²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℃-100℃处理3-5min (若样品较难裂解, 可延长95℃-100℃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4mm×4mm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℃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℃储存。

反应体系:

20μl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 μl
Primer 1 (10μM)	0.5 μl
Primer 2 (10μM)	0.5 μl
2×Plant Direct Master Mix	10 μl
ddH ₂ O	补足至20μl

反应程序: (建议退火温度设置为 $T=T_m-2$)

94℃	5 min	
94℃	15 sec	} 32-40 cycles
50℃-72℃	15 sec	
72℃	30sec/kb	
72℃	5 min	

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。