



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	} 32-40 cycles
94℃	15 sec	
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。