产品概述

AcuGenix™ Plant Tissue Direct Hifi PCR Kit 植物组织直接高保真 PCR 试剂盒是一款可直接对不同类型植物叶片进行 PCR 扩增的试剂盒，适应性广、稳定性强。试剂盒采用独特的裂解缓冲液体系，可以快速裂解多种植物样品并释放出基因组 DNA，不需要除去蛋白、RNA 或次生代谢产物等，即可将释放出的基因组 DNA 作为模板直接用于 PCR 反应。

本试剂盒中提供的 **2×Plant Hifi Master Mix** 是一款即用型 2×高保真 PCR 预混液，采用经基因工程改造的热启动型高保真 DNA 聚合酶，具有极高的 DNA 亲和力和快速连续合成能力，对复杂模板和部分降解模板均有很好的兼容能力，保真性约为 Taq 酶的 154 倍。试剂中添加了独特的延伸因子、特异性促进因子，使其在扩增能力、扩增特异性以及扩增产量方面得到了大幅度提升。能直接以待测样品裂解液为模板，进行高效特异性扩增。

2×Plant Hifi Master Mix 已包含热启动型高保真 DNA 聚合酶、dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重现性，降低污染几率。

产品信息

产品名称	货号	规格
AcuGenix™ Plant Tissue Direct Hifi PCR Kit	BR1A503-01	40 T
	BR1A503-02	200 T

产品组分

组分名称	40T	200T
Plant Lysis Buffer	4 mL	20 mL
2×Plant Hifi Master Mix	1 mL	1 mL×5

保存条件

Plant Lysis Buffer 置于 2-8℃存储；2×Plant Hifi Master Mix 置于-20±5℃存储。

适用范围

本产品适用免提取植物组织为模板的 PCR 反应，快速 PCR 和长片段 PCR 等；可用于转基因植株鉴定、植物基因分型等。

注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 取材器具（打孔器、手术刀或剪刀）使用前需保证清洁，用无菌 RNase-free 吸水纸擦拭去除可见组织残留，滴加无水乙醇至刀刃，点燃后燃烧 2 min，待自然冷却后用 RNase-free 超纯水冲洗，确认无去污剂残留后方可接触样本。
3. 请勿使用 dUTP 和带有尿嘧啶的引物和模板。
4. 2×Plant Hifi Master Mix 中 DNA 聚合酶经单克隆抗体修饰，反应体系可于常温配置，但建议在使用前置于冰上，使用后及时置于冰箱保存。

使用方法

1.植物组织裂解

取约 3 x 5 mm^2 新鲜或冻存植物组织（推荐使用植物叶片）稍加剪碎后加入 200 μL PCR 管中或 1.5 mL EP 管中，加入 50 μL-100 μL **Plant Lysis Buffer**，在管内用吸头充分捣碎，使组织完全浸没在裂解混合液中，于 PCR 仪或金属浴中 95℃孵育 10-20 min，加热裂解后溶液呈现绿色，振荡混匀，4000 rpm 离心 30 s，取上清液 1-2 μL 用于 PCR 扩增，其余上清液请放在-20℃备用 。

a.取样时使用打孔器或者刀取适宜大小的样本，样本不同时，打孔器或者刀每次处理样本前需清洗干净。

b.务必取上清液试验，沉淀会严重抑制 PCR 反应。

2.PCR 反应体系配制

2.1 将各组分试剂在室温或冰面上解冻后混匀，瞬时离心。按照表 1 配置反应液：

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积（μL）	终浓度
裂解后上清液（DNA 模板 [c]）	1-2	/
2×Plant Hifi Master Mix	25	1×
上游引物 [d](10 μM)	1	0.2-0.4 μM
下游引物（10 μM）	1	0.2-0.4 μM
ddH_2O	Up to 50	/

c.模板加入量：添加量尽量小于 PCR 反应体系的 5%，过多会抑制 PCR 反应，推荐加入 1 μL 模板。

d.引物终浓度：0.2-0.25 μM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可在 0.1-0.5 μM 范围内调整引物浓度。

e.体系配制：配制好 PCR 反应体系，置于涡旋仪上涡旋混匀，瞬时离心将反应液集于管底。

3. PCR 扩增程序

3.1 根据表 2 信息在 PCR 仪上设置 PCR 扩增程序：

表 2. PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105℃	/	/
预变性	98℃	15 sec	1
变性	98℃	5 sec	30-35
退火	55-72℃	5 sec	
延伸	72℃	2 sec/kb	
完全延伸	72℃	2-3 min	1
保温	4℃	∞	1

f.对于大多数模板，预变性设置为 15 sec。若模板 GC 含量过高，可延长至 30 sec。

g.请根据引物 Tm 值设置退火温度；如发现扩增特异性差，可适当提高退火温度。

h.扩增 2 kb 以下目的片段时，可按上述反应程序进行设置；若扩增更长片段或者扩增效果不佳时，可自行调整程序温度及时间。