

尊敬的聚合美双超 mix 粉丝：

非常感谢您对聚合美的支持和对新事物的拥抱，使用前请认真阅读《温馨提示》和《操作说明书》。

### 多糖多酚双超 mix (MF898) 使用“温馨提示”：

- 1、 多糖多酚双超 mix (MF898) 含有四个组分：一个是裂解液叫“扩增最佳伴侣”(MF859)，一个是多糖多酚萃取剂叫“多糖多酚魔力克星”，一个 2xPCRMix 叫“双超 mix”，还配带了一管 ddH<sub>2</sub>O，方便使用。
- 2、 本产品免基因组DNA提取：“扩增最佳伴侣”的作用是为了裂解细胞，释放出DNA当模板（**请摸索最适合您实验的最佳伴侣和样本的比例关系**：样本太多会超出最佳伴侣的处理上限，导致裂解不完全；样本太少会造成模板浓度过低，导致PCR失败）。因为裂解液在特殊的情况下需要20-50ul，而标准裂解是20ul处理体系，可能会有客户单独购买裂解液的需求，所以也可以单独购买。
- 3、 在您收到本产品后，打开包装，**将“扩增最佳伴侣”取出放在室温**，使用前看看是否有沉淀，一定要确保裂解液没有沉淀，否则按说明书在 37 度溶解澄清后使用。
- 4、 样本处理量：菌液、菌体和液体样本，推荐是 20ul 处理体系。而植物和动物组织，推荐是 40ul 加入 1-2 平方毫米的样本，对于比较难处理的组织可以用 50-100ul 裂解液。
- 5、 样本处理：
  - 1、 取样：取 1 平方毫米的叶片或组织放入 1.5ml 离心管，切记不要放入过多样本。
  - 2、 加裂解液：吸取 50-100ul 裂解液加入在上述 1.5ml 离心管，用**适合的研磨方式来破碎组织**（见下面研磨小技巧），并让裂解液完全浸没样本。**注意：裂解液的使用体积由样本幼嫩程度和坚硬程度调整，越老越硬的样本需要加更多的裂解液。**

研磨小技巧：

  - 1) 将黄枪头用火灼烧融化成自制的“研磨杵”，在离心管中研磨幼嫩组织或者昆虫；
  - 2) 成熟叶片或较大组织，在 1.5ml 离心管中用**研磨杵**旋转挤压破壁；
  - 3) 种子或很厚样本（杨树叶片）需要先用**液氮打碎**研磨，再取少数样本加入裂解液；

（可以通过看裂解液的颜色来判断是否充分破碎）
- 6、 本产品主要针对多糖多酚的植物样本（比如棉花、烟草、番茄、杨树和一些海藻）和动物鼠尾等样本，研磨处理后，**加入等体积的“多糖多酚魔力克星”振荡处理**，然后 12000rpm 离心 2 分钟取上清，效果会有很大改善。
- 7、 12000rpm 离心 1-2 分钟，取 1-2ul 做 PCR 模板，**剩余的放在-20 度保存一个月以上**，以备后续再次检测。**再次取出做模板时，务必 12000rpm 离心 1-2 分钟才能取上清 1-2ul 做 PCR 模板。**
- 8、 **PCR 程序设置**：把 PCR 延伸速度降下来，平时是 5-10 秒/kb，现在要变成 30-60 秒/kb，因为在粗提物为模板的 PCR 中速度慢，好比类似在水里跑步和陆地跑步！
- 9、 **PCR 循环数**：CTAB 提取的 DNA 纯度高，浓度大，而本产品处理的 DNA 模板是粗提物，循环数要比以前用 CTAB 模板增加 2-3 个循环，效果会好很多

# M5 多糖多酚双超 mix（无需提取基因组 DNA） 使用说明书（V.4）

产品名称	单位	货号
M5 多糖多酚双超 mix	1 ml	MF898-01
M5 多糖多酚双超 mix	10×1 ml	MF898-10
M5 多糖多酚双超 mix	100×1 ml	MF898-100

## 【储存条件】

多糖多酚双超 mix 和 M5 Hiper 多糖多酚魔力克星 保存请置于 **-20°C**，有效期 24 个月。  
直接扩增最佳伴侣**收到后置于常温保存**，如果 4°C 或 -20°C 保存**出现结晶**，请将该试剂置于 37°C 水浴中重新溶解后摇匀使用。

## 【产品简介】

本产品包含聚合美特制的 M5 Hiper 双超 mix 直接扩增最佳伴侣，可以迅速裂解酵母、农杆菌、革兰氏阳性菌、放线菌等微生物的细胞壁，短暂煮沸后的液体可以直接作为 PCR 模板；同样可以用于动植物组织细胞样品的裂解，是各种粗样品直接 PCR 的必备神器，可兼容普通 Taq 酶或高保真酶的下游 PCR 扩增。

本产品包含聚合美特制 Best W5 HiPer High-Fidelity DNA Polymerase、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂、优化剂以及稳定剂，浓度为 2×。Best W5 HiPer High-Fidelity DNA Polymerase 比普通 Taq 酶扩增效率高、错配率低，具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好、**扩增速度快（30-60 秒 1kb）**等优点。可最大限度地减少人为误差，可用于高特异性 PCR 反应及 GC 含量较高（>60%）具有二级结构等复杂模板的扩增和大规模基因检测。PCR 产物是平末端，纯化后可直接用于 TA 载体克隆(货号 MF021 或 MF022)。本产品不含染料，在 PCR 反应完成后，需添加上样缓冲液才能上样进行电泳；也可经过纯化处理，以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

## 【产品组份】

	储存温度	MF898-01	MF898-10	MF898-100
2x M5 Hiper 双超 mix	<b>-20°C</b>	1 ml	10x1ml	100x1ml
M5 Hiper 多糖多酚魔力克星	<b>-20°C</b>	2 ml	10x2ml	100x2ml
M5 Hiper 直接扩增最佳伴侣	常温	2 ml	10x2ml	100x2ml
Nuclease-free ddH <sub>2</sub> O	常温	1 ml	10x1ml	100x1ml

## 【适用范围】

1. 基因检测：本产品不同批次之间误差很小，特别适合大规模基因检测、半定量 PCR 实验和微量 DNA 的检测。
2. 用于从复杂模板中如基因组等扩增 PCR 产物，如表达基因的克隆、基因的定点突变和细胞内基因点突变的分析（SNP）等。

**【所需试剂】** 使用者仅需准备 PCR 反应的模板和引物等。

## 【样本处理方法】

### 一、注意事项：

- A、**做好正对照**：以 CTAB 或者试剂盒提取的基因组 DNA 做 PCR 模版。
- B、裂解液处理组织样品时**取样切勿太多**：50-100ul 裂解液加入 1-2mm<sup>2</sup>（1-2 平方毫米）大小样本为宜！

**二、适用对象**：多糖多酚植物，比如，常用实验模式植物，木本的杨树和松树，草本的番茄，草莓，大豆和菊花等。

**三、适用组织**：幼嫩叶片，果实、种子、根组织等

### 四、具体操作方法：

- 1、取样：取 1 平方毫米的叶片或组织放入 1.5ml 离心管，切记不要放入过多样本。
- 2、加裂解液：吸取 50-100ul 裂解液加入在上述 1.5ml 离心管，用**适合的研磨方式来破碎组织**（见下面研磨小技巧），并让裂解液完全浸没样本。**注意：裂解液的使用体积由样本幼嫩程度和坚硬程度调整，越老越硬的样本需要加更多的裂解液。**

研磨小技巧：

- 1) 将黄枪头用火灼烧融化成自制的“研磨杵”，在离心管中研磨幼嫩组织或者昆虫；
- 2) 成熟叶片或较大组织，在 1.5ml 离心管中用**研磨杵**旋转挤压破壁；
- 3) 种子或很厚样本（杨树叶片）需要先用**液氮打碎**研磨，再取少数样本加入裂解液；  
(可以通过看裂解液的颜色来判断是否充分破碎)
- 3、研磨处理后，加入与**裂解液等体积**的“多糖多酚魔力克星”，**振荡 Vortex 处理**，然后 12000rpm 离心 2 分钟取上清。
- 4、取 1-2ul 上清做 PCR 模板（加入的量不要超过 PCR 体系的 1/10，以 1/20 为宜）。
- 5、**PCR 程序设置**：把 PCR 延伸速度降下来，平时是 5-10 秒/kb，现在要变成 30-60 秒/kb，因为在粗提物为模版的 PCR 中速度慢，好比类似在水里跑步和陆地跑步！**PCR 循环数**：CTAB 提取的 DNA 纯度高，浓度大，而本产品处理的 DNA 模板是粗提物，循环数要比以前用 CTAB 模板增加 2-3 个循环，效果会好很多

## 【PCR 操作示例】

按下表配制 PCR 反应体系（冰上操作）：

Template DNA（上述步骤准备）	1-2μl
2x M5 Hiper 双超 mix (with red dye)	10 μl
Primer 1 (10 μM)	0.5 μl
Primer 2 (10 μM)	0.5 μl
Nuclease-free ddH <sub>2</sub> O 补足至	20 μl

**建议的 PCR 条件:**

95°C	3 min.
32-36 *cycles of:	
94°C	25 sec.
55-64°C	25 sec.
72°C	30-60sec.** / kb DNA
72°C	5 min.
4°C	forever

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。

