

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) 含有三个组分：一个是裂解液叫“扩增最佳伴侣”(MF859)，一个 2xPCRMix 叫“双超 mix”，还配带了一管 ddH₂O，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 10ul 处理体系。而植物和动物组织，推荐是 20ul 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。务必采用**适合的研磨方式来破碎组织**，让细胞充分破裂释放 DNA。
- 5、 **研磨小技巧**：1) 将**蓝枪头**用火灼烧融化成自制的“研磨杵”，在 0.2mlPCR 管中研磨幼嫩组织或者昆虫；
2) 成熟叶片或较大组织，加入 50-100ul 裂解液在 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**液氮研磨**，再取少数样本加入 50-100ul 裂解液；
（可以通过看裂解液的颜色来判断是否充分破碎）
- 6、 沸水浴处理 3-5 分钟，如果实验室没有沸水浴，也可以用 PCR 仪 98 度处理 3-5 分钟。
- 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、 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，在沸水浴冷却到室温，**加入等体积的氯仿振荡处理**，然后 12000rpm 离心 2 分钟取上清，效果会有很大改善。
- 9、 **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！
- 10、 **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）说明书

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 长期保存请置于-20°C，有效期 24 个月。经常使用，可置于 4°C 保存至少六个月。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、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂、优化剂以及稳定剂，浓度为 2x。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)。本产品含有红色染料，在 PCR 反应完成后，不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳；也可经过纯化处理，以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。红色染料可指示电泳进程，其迁移速度在 1% TAE 琼脂糖凝胶中与 800 bp 双链 DNA 片段相近。

【产品组份】

	储存温度	MF898-01	MF898-10	MF898-100
2x M5 Hiper 双超 mix (with red dye)	-20°C	1 ml	10x1ml	100x1ml
M5 Hiper 双超 mix 直接扩增最佳伴侣	常温	2 ml	10x2ml	100x2ml
Nuclease-free ddH ₂ 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】

A、裂解液处理组织样品时取样切勿太多；

B、裂解液处理后的用做 PCR 模板，加入的量不要超过 PCR 体系的 1/10。

1、**菌液样品**

将培养至对数生长期的菌液（酵母、革兰氏阳性菌、农杆菌、放线菌培养液等）以菌液和裂解液体积比 1:2 混合（5ul 菌液：10ul 最佳伴侣），直接沸水浴 3-5 分钟，短暂离心后取 1-2 μ l 作为后续 PCR 模板。

2、**平板上的菌落**

用灭菌枪头挑取少量菌体，加入 10 μ l 最佳伴侣，吹吸混匀，95 °C 或沸水浴 3-5 分钟，12000rpm 离心 1-2 分钟，取 1-2 μ l 作为后续 PCR 模板。

3、**血液或其他液体样品**（尿液、组织液或者各种体液）

以液体样本和裂解液体积比 1:2 混合（5ul 样本：10ul 最佳伴侣），95 °C 或煮沸 3-5 分钟，12000rpm 离心 1-2 分钟，取 1-2 μ l 作为后续 PCR 模板。

4、**植物组织样品**（幼嫩叶片，果实、种子、根组织等）

（棉花、烟草、杨树、番茄、柑橘等**多糖多酚类样本**），取 2-3mm² 样本加入 50ul 裂解液，将固体样品尽量研磨，煮沸 5 分钟，**等上述样本冷却到室温加入 50ul 氯仿，Vortex 10 秒**），12000rpm 离心 2 分钟，取 1-2 μ l 作为后续 PCR 模板。

5、**动物组织样品**（鼠尾、鼠耳等组织）

50ul 裂解液加入 2-3mm² 样本，将固体样品尽量研磨，煮沸 3-5 分钟，（鼠尾、鼠趾等**富含胶质样本，等上述样本冷却到室温加入 50ul 氯仿，Vortex 10 秒**）12000rpm 离心 2 分钟，取 1-2 μ l 作为后续 PCR 模板。

6、**土壤等环境组织样品**

50ul 裂解液加入 2mm² 样本，将固体样品尽量研磨，95 °C 或煮沸 3-5 分钟，12000rpm 离心 2 分钟，取 1-2 μ l 作为后续 PCR 模板。

【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）	1-2 μ l
2x M5 Hiper 双超 mix (with red dye)	10 μ l
Primer 1 (10 μ M)	0.5 μ l
Primer 2 (10 μ M)	0.5 μ l
Nuclease-free ddH ₂ O 补足至	20 μ l

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

【PCR 程序设置注意事项】

* 以粗提物为模板做 PCR，因为模板量更少，循环数应比用 CTAB 提取 DNA 做模板 PCR 循环数**多 2-3 个循环**。

** 以粗提物为模板做 PCR，杂质比较多类似在水中跑步，降低扩增速度有利于得到稳定结果，建议**延伸速度 60 秒/1kb**。

【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。