

血液直扩 PCR 预混液(2×)

Blood Direct PCR Mix (2×)(With Dye)

货号	规格	反应次数
BDAG0032-1ml	1ml	100rxn (10ul/rxn)
BDAG0032-5ml	5ml	500rxn (10ul/rxn)
BDAG0032-100ml	100ml	10000rxn (10ul/rxn)

运输：冰袋运输，储存：-20℃保存可保存 24 个月。

试剂组分：

组分名称	货号		
	BDAG0032-1ml	BDAG0032-5ml	BDAG0032-100ml
Blood Direct PCR Mix (2×)	1mL	5mL	100mL

产品描述：

本产品为一款可针对全血样本进行直接 PCR 扩增反应的试剂盒，全血样本无需进行 DNA 纯化或者样本预处理。本试剂盒适用于含 EDTA、肝素、柠檬酸钠等常规的抗凝血，新鲜血、4℃储藏血、冷冻血液以及 FTA 卡上的干血渍均可完成扩增反应。

本试剂盒中使用了经过定向改造的直扩 DNA Polymerase，该酶对血液中的 PCR 抑制物具有极强的耐受性，较高的灵敏度和特异性。PCR 反应体系中，可完成扩增的血液浓度高达 40%。

本产品为一种 2×浓度的预混试剂，操作简单并减少了污染的可能性，可实现高通量检测。2×预混试剂包括 PCR 反应所需要的 DNA 聚合酶、dNTP、Mg²⁺、缓冲液，增强剂和电泳指示染料等成分，只需向反应体系加入引物和模板即可进行 PCR 反应，PCR 反应完成后即可直接进行电泳检测。

产品特点

1. 无需进行核酸提取或纯化，直接对血液样本进行 PCR 扩增反应；
2. 产品中含有电泳指示染料，PCR 产物可直接进行电泳检测；

3. 扩增产物在 1kb 之内扩增效率最佳，针对大于 1kb 的扩增，用户可自行优化反应条件或致电我司客服人员；
4. 可针对高 GC 含量片段进行有效扩增，扩增能力强；
5. 扩增产物比普通 Taq 酶错配率低，PCR 产物经纯化后可用于 DNA 测序；
6. 扩增产物中 3'端加“A”碱基，纯化后可直接用于 TA 克隆。

扩增体系和条件

1. 反应体系制备

组分	体积 (μL per sample)		终浓度
	Mix A	Mix B	
Blood Direct PCR Mix (2×)	10	25	1×
Forward Primer (10 μM)	0.5	1.0	0.25 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.5	1.0	0.25 μM
DNA Template*	Variable	Variable	/
PCR Grade H ₂ O	To 20	To 50	/
总体积 (per reaction)	20	50	

*备注：直接加入全血作为 DNA Template，吸取全血前充分涡旋混匀并避免吸取到血液凝块；通常使用的全血含量为 PCR 总反应体积的 10%-15%，推荐 10% 做为初始测试条件，任何情况下全血的加入量不应超过 40%。如模板加入量 ≥ 15%，建议使用 50 μl 的反应体系和条件；如果样本是贮存在 FTA 滤纸卡上的干血渍，直接取 1mm² 左右带血渍的圆纸片，无需预处理即可直接放入到配制好的 PCR 反应液中进行实验。

2. 反应程序

Initial Denaturation	95°C	5-10 min	
Denaturation	95°C	25 sec	
Annealing* ¹	60°C	25 sec	35-40cycle
Extension* ²	72°C	1 min	
Final Extension	72°C	7 min	

备注：

*1: *Annealing* 退火温度根据引物的实际退火温度(T_a)进行设置;

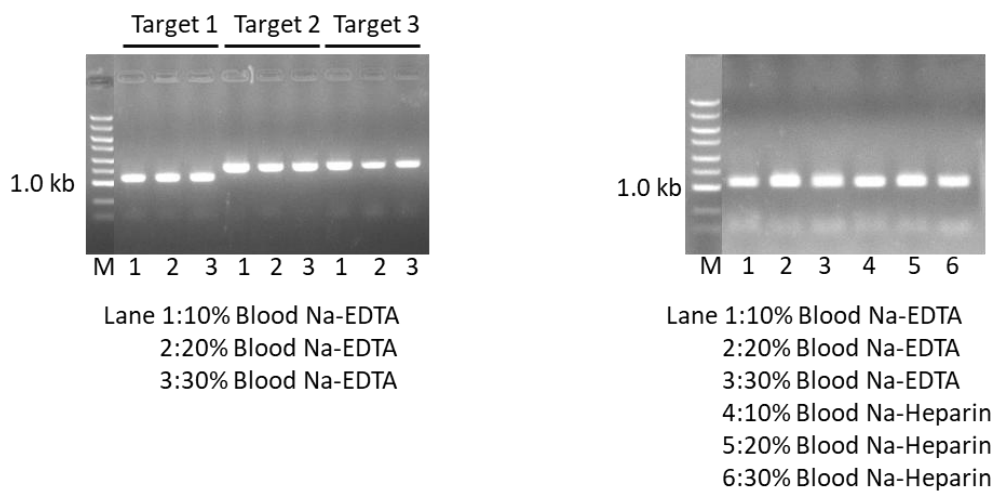
*2: *Extension* 延伸速度为 1kb/s。

3. 扩增产物检测

PCR 扩增完成后, 将 PCR 扩增产物于 4000×RPM 下离心 2-3 min 以沉淀血细胞碎片, 然后取上清液进行下游分析。离心步骤可有效去除多种血液组分, 尤其是当血液加入量 $\geq 15\%$ 的反应条件下, 原因为经过 PCR 反应后体系中会产生大量血细胞碎片, 从而干扰下游如琼脂糖凝胶电泳的检测。

应用实例

使用本试剂盒对不同类型抗凝全血样本, 以及不同血液加入量条件下, 进行直接 PCR 扩增反应后的琼脂糖凝胶电泳检测结果如下:



注意事项

1. 产品解冻需要在冰上进行, 并避免反复冻融;
2. 使用前上下轻柔颠倒试剂瓶数次, 确保各试剂成份完全混匀, 未混匀试剂反应性能会有所下降;
3. PCR 反应配制过程需在冰上进行, 各成份加毕后请短暂涡旋混匀并离心;
4. 请仔细阅读本说明, 严格按照操作流程和推荐的量使用本产品;
5. 本产品仅供科学研究使用, 不可用于临床诊断。