

血液直扩探针法 qPCR 预混液(2×)

Blood-Direct Taqman qPCR Master Mix (2×)

货号	规格	反应次数
BDAG0035-1ml	1ml	100rxn (10ul/rxn)
BDAG0035-5ml	5ml	500rxn (10ul/rxn)
BDAG0035-10ml	10ml	1000rxn (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		
	BDAG0035-1ml	BDAG0035-5ml	BDAG0035-10ml
Blood-Direct Taqman qPCR Master Mix (2×)	1 mL	5 mL	10 mL
ROX Reference I (50×) *	40 μL	200 μL	400 μL
ROX Reference II (50×) *	40 μL	200 μL	400 μL

*备注：**ROX Reference** 为另行选配试剂，本产品未含；针对不同型号 Real-Time PCR 仪，使用方法如下：

- ROX Reference I (50×)** 为高浓度 ROX，适用于如下型号 Real Time PCR 仪：
 - Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；
 - Applied Biosystems 7900 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；
 - Step One Plus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。
- ROX Reference II (50×)** 为低浓度 ROX，适用于如下型号 Real Time PCR 仪：
 - Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；
 - Applied Biosystems 7500 FAST Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。
- 当使用于如下型号 Real Time PCR 扩增仪时，无需加入 **ROX Reference**：
 - Roche、Bio-Rad、TaKaRa 等其它无需加入 ROX 校准染料的 Real-Time PCR 仪。

产品描述：

本产品可针对血液样本，无需进行核酸提取，直接将血液样本作为模板(Template)构建 PCR 反应体系，进行 Taqman Probe 法 qPCR 反应，用于基因含量和转基因等检测。

产品中使用了经过定向改造，并进行了抗体封闭的直扩型热启动聚合酶(Hot-Start DNA Polymerase)，配合条件优化的热启动 qPCR 专用缓冲体系，对血液样本中的 PCR 抑制物具有极强的耐受性，可有效避免类似于非热启动型聚合酶导致的非特异性扩增反应，从而提升 PCR 扩增效率。同时也能够针对不同 GC 含量的基因完成理想扩增，获得高灵敏度的 qPCR 检测结果。

产品特点

1. 无需核酸提取或者纯化，直接将原始血液样本作为模板(Template)，进行 Taqman qPCR 反应，省时省力；
2. 使用了抗体封闭的突变型聚合酶，可以进行 Hot Start 法 PCR 反应，与特别开发的 Buffer 系统相结合，具有高扩增效率、高扩增灵敏度的特点；
3. 可针对高 GC 含量片段进行有效扩增，扩增能力强。

扩增体系和条件

1. 反应体系制备

组分	体积 (μL/ rxn)		终浓度
	Mix A	Mix B	
Blood-Direct Taqman qPCR Master Mix (2×)	10	25	1×
ROX Reference (50×)	0.4	1	1×
Forward Primer (10 μM)* ¹	0.4	1	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)* ¹	0.4	1	0.2 μM
Probe (10 μM)	0.4	1	0.2 μM
Template* ²	Variable	Variable	/
PCR-Grade H ₂ O	To 20	To 50	/
总体积/rxn	20	50	

备注：

*1: 0.2 μM 终浓度的引物(Primer)和探针(Probe)，可满足大部分的实验要求，用户亦可根据实际情况对引物和探针浓度进行调整；

*2: Template 为原始全血样本，建议加入量为 PCR 反应体系的 5%，比如：如选择 20uL 反应体系，加入 1 μL 全血样本；如选择 50uL 反应体系，加入 2.5 μL 全血样本。若需加入超过 5%(v/v)的全血模板，可选择本公司另一款产品：增强型探针法血液直扩试剂盒(Blood-Direct Taqman qPCR Enhanced Kit)。

2. 反应程序

Step	Temp.	Time	Cycle
Initial Denaturation	95°C	5 min	1 Cycle
Denaturation	95°C	15 sec	35~45 Cycles
Annealing / Extension / Data Collection	60°C	1 min	

注意事项

1. Master Mix 使用前上下轻柔颠倒数次，确保各试剂成份完全混匀，并短暂离心收集试剂至容器底部，试剂如未充分混匀可能导致反应性能下降；
2. Master Mix 放置于 4°C 的保存时间不应超过 1 周，长期保存则置于 -20°C；
3. 配制 PCR 反应 Mix，各成份依次加入后需涡旋混匀并进行短暂离心；
4. 请避免核酸酶污染样本，否则可能造成扩增反应出现困难的情况；
5. ROX Reference 对光敏感，应避免强光照射；
6. 为获得 S 形反应曲线，在使用 ROX 的反应体系中，建议将阈值设置为 0.1~0.2，基线设置为自动基线；在不使用 ROX 的反应体系中，将阈值设置为 5,000~100,000，基线一般设置为 3~15 Cycles。用户需根据实验具体情况进行调整，使阈值线处于反应的对数期 (线性图谱) 或线性期 (对数图谱)。
7. 本产品仅供科学研究使用。