

血液直扩探针法 qPCR 试剂盒(增强型)

Blood-Direct Taqman qPCR Enhanced Kit

货号	规格	反应次数
BDAG0036-1ml	1ml	100rxn (10ul/rxn)
BDAG0036-5ml	5ml	500rxn (10ul/rxn)
BDAG0036-10ml	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		
	BDAG0036-1ml	BDAG0036-5ml	BDAG0036-10ml
Blood-Direct Taqman qPCR Enhanced 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
Buffer BL01	7.5 mL	37.5 mL	75 mL

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

1) **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)。

2) **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)。

3) 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:

本产品可针对各种类型血液样本，无需进行核酸提取，直接进行 Taqman Probe 法 qPCR 反应，用于基因含量和转基因等检测。

用试剂盒中专门开发的 Buffer BL01 组分，对血液样本进行简单预处理后，直接进行 qPCR 扩增反应，检测结果可媲美以核酸提取后的高纯 DNA 产物作为模板的反应效果。

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，直接对原始血液样本进行 SNP Genotyping qPCR 反应，省时省力；
2. 配合专门开发的高性能样本预处理组分 Buffer BL01，直接 qPCR 反应效果可媲美以高纯 DNA 提取产物作为模板的反应效果；
3. 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；
4. 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. 样本预处理

- 1) 向 0.2 mL EP 管（或 96 孔 PCR 板）中加入 75 μ L Buffer BL01；
- 2) 向 Buffer BL01 中加入等体积（75 μ L）待检血液样本，涡旋混匀、短暂离心；
- 3) 将 EP 管于 95 $^{\circ}$ C 下加热 5~10min 后，置于平板离心机 4000g 离心 2min（或台式离心机 12,000RPM 离心 2min），可直接吸取上清液作为 PCR 反应模板使用。

备注:

1) 建议模板加入量为总反应体积的 10~30%，优选加入量为 20%，请勿超过 30%。如需加入更多量模板请与本公司技术人员联系；2) 样本若需要长期保存请将上清液置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

2. 反应体系构建

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

*备注:

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, 用户亦可根据经验对Prime和Probe浓度进行调整。

3. 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 置于 4°C 的保存时间不应超过 1 周, 长期保存置于 -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。