

Blood Direct PCR Assay Kit

血液样本直接 PCR 检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1534A	血液样本直接 PCR 检测试剂盒	200T

产品简介:

可直接对全血样本进行 PCR，无需进行 DNA 纯化或样品预处理的试剂盒。可用于直接扩增新鲜血液、4°C保存血液、冷冻血液、储存在 Whatman903 和 FTA 商用卡上的干血渍，且兼容所有常规抗凝剂（EDTA、柠檬酸盐、肝素等）。本产品采用高保真酶，对全血样品中 PCR 抑制剂具有超强抵抗力，可扩增全血浓度高达 20%；对于长达 10kb 的基因组片段可良好扩增。

本产品的扩增产物为平末端，如需要进行 TA 克隆，需将扩增产物纯化后进行加 A 反应。本产品含有阳性对照的引物预混液 Positive Control Primer Mix，能够从哺乳动物和大多数脊椎动物的 SOX21 基因上游保守序列中扩增出长度 237 bp 的片段。

产品特点:

- ◇ 超简操作：无需 DNA 提取，全血样本直接进行 PCR 扩增鉴定。
- ◇ 超强抑制剂耐受性：在常用抗凝剂存在的情况下，提供稳定一致及可靠的性能。
- ◇ 全面样品类型覆盖度：适用于不同类型全血样本的 PCR 扩增反应。

产品组成:

编号	组分	规格
BL1534A-1	2×Blood Direct PCR Mix	1mL×5
BL1534A-2	Positive Control Primer Mix (10μM each)	100μL

使用方法:

1. PCR 扩增体系

将 2×Blood Direct PCR Mix 从-20°C取出后置于冰上解冻，上下颠倒混匀后按下表配制 PCR 反应体系（冰上操作）：

组分	50μL 体系	终浓度
2×Blood Direct PCR Mix	25μL	1×
正向引物（10 μM）	2.0μL	0.4μM
反向引物（10 μM）	2.0μL	0.4μM
全血 ^a	XμL	
水	补足至 50μL	

a. 最适全血模板浓度范围为 1-20%，推荐使用 10%作为初始尝试条件，尽量避免吸取血液凝块。如果样本是贮存在 Whatman 滤纸卡上的干血渍，则可取约 1-4 个 1mm² 带血渍的圆纸片，将其直接放入 PCR 反应液中，无需预处理。



2. PCR 仪程序设置:

步骤	温度	时间	循环数 ^e
预变性 ^b	98°C	5min	1
变性	98°C	15s	} 35
退火 ^c	56-72°C	15s	
延伸 ^d	72°C	30s/kb	
终延伸	72°C	5min	1

b. 预变性 98°C, 5min 可以让白细胞裂解, 释放基因组 DNA 进行 PCR 扩增。

c. 根据引物 T_m 确定退火的温度, 如扩增效果较差, 可采用温度梯度寻找最适退火温度; 推荐退火时间 15s。

d. 如发现扩增效率较低, 可适当延长延伸时间至 60s/kb。

e. 一般而言, 35 个循环已可以扩增足量产物。太多的循环将会导致非特异性扩增增加, 且有可能会降低扩增保真度。

3. 扩增产物分析

PCR 完成后, 建议将反应液于 4,000 rpm (1,000×g) 离心 1-3 min 以沉淀血细胞碎片, 之后取上清进行下游分析。若需对 PCR 产物进行酶切分析 (如 PCR-RFLP), 应预先将其稀释 2-4 倍, 以去除存在于 PCR 反应液中的盐及其它抑制剂对酶切反应的干扰。

注: 离心取上清该步骤可有效去除多种血液组分。当使用高浓度血液模板时此步尤为重要, 因为经过 PCR 循环, 反应管中会存在大量的血细胞碎片。这些碎片会干扰下游的检测, 如琼脂糖电泳检测。

补充说明:

1. 吸取抗凝血, 尤其是长期存放过的抗凝血时, 应尽量避免吸取血液凝块。
2. 全血短期保存 (少于 3 个月), 可置于 4°C; 长期保存, 推荐存于 -20°C 或者 Whatman FTA/930 卡上。
3. 2×Blood Direct PCR Mix 扩增产物为平端, 如需要进行 TA 克隆, 加 A 之前必须进行 DNA 纯化。
4. 阳性对照引物序列:

Primer 1(24-mer)5'- AGCCCTTGGGGASTTGAATTGCTG -3', T_m : 69.5°C。

Primer 2(27-mer)5'- GCACTCCAGAGGACAGCRGTGTCAATA -3', T_m : 67.9°C。

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品;
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C 保存, 保质期 24 个月。

