

版本号: KG180611

Blood Direct PCR Kit

血液直接PCR试剂盒

目录号: KG204

产品内容

产品组成	KG204-01 (20 μ l \times 100 rxn)	KG204-02 (20 μ l \times 500 rxn)
2 \times Blood Direct PCR MasterMix	1 ml	5 \times 1 ml
RNase-Free ddH ₂ O	1 ml	5 \times 1 ml

储存条件

该试剂盒置于-20 $^{\circ}$ C条件下可保存12个月；从-20 $^{\circ}$ C取出使用时，将冻存的2 \times Blood Direct PCR MasterMix融解，然后轻轻颠倒混匀，待溶液完全均一后再行使用。如需一段时间内经常取用，可在2-8 $^{\circ}$ C条件下储存3个月，但要避免反复多次冻融。

产品简介

本试剂盒可以直接对血液样本进行PCR检测，而无需在此之前进行DNA的纯化或样品处理。试剂盒的PCR组分为2×预混Mix，只需加入血液模板和相应检测引物即可进行反应，操作方便快捷。预混Mix中的Taq DNA聚合酶经过针对抗抑制物的基因工程改造，加之为此抗逆酶专门优化的反应体系，使得本试剂盒能够以多种物种的不同保存方式的血液样本为模板，直接进行PCR检测。PCR产物3'端为A，可直接用于TA载体克隆。

本试剂盒能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因，可广泛适用于基因组DNA片段的扩增检测(≤5 kb)、高通量遗传分析和基因分型(如基因缺失)等研究。

产品特点

简便快捷：直接以血液为模板进行PCR鉴定，告别样本前处理和DNA提取等繁琐步骤；

抗逆性强：基因工程改造DNA聚合酶，配合精心优化的Buffer体系，具有超强抗PCR抑制物能力，避免血液样本中杂质的干扰，血液模板加入范围可达0.1-5 μl(20 μl PCR体系)。

高通量：配合96/384孔PCR板使用，可进行大规模样本的PCR鉴定工作；

无污染：直接以血液为模板，不需前处理过程，避免样本交叉污染问题；

复杂模板：有效扩增高GC含量或复杂二级结构片段；

长片段扩增：扩增片段长度可达5 kb；

样品适用广泛：适于人，小鼠，猪，牛等哺乳动物和禽类等物种，包括培养细胞，新鲜全血，4℃储存或者冷冻的全血，抗凝血(EDTA、柠檬酸盐、肝素)，血凝块，Whatman 903[®]、FTA[®] Elute等商用样品收集纸或常规滤纸收集的干血斑等。

注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 过多的血液模板会抑制PCR扩增反应，请参考“血液模板的建议用量”来调整模板用量。在20 μl反应体系中，最适的模板加入量为1-2 μl。初次实验时，建议在1-5 μl范围内设置梯度模板加入量，以便找到最适模板用量。
 2. 若使用其他不同的反应体积请等比例减少或增加模板使用量。
 3. 扩增产物由于血液模板中血红蛋白的变性而呈现浑浊现象，这不影响后续的电泳检测，但如果后续进行克隆、测序等实验则需对产物进行纯化。
-

操作步骤

注意：以下举例仅供参考，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据实际情况，设定最佳反应条件。

1. 使用血液直接PCR试剂盒，以人类EDTA抗凝血为模板，扩增1 kb的片段。
2. 按照下表中各组分的加入量进行反应液的配制。

反应体系：

组成成分	50 μ l 体系	20 μ l 体系	终浓度
血液样品模板	2.5 μ l	1 μ l	-
正向引物 (10 μ M)	1.25 μ l	0.5 μ l	250 nM
反向引物 (10 μ M)	1.25 μ l	0.5 μ l	250 nM
2 \times Blood Direct PCR MasterMix	25.0 μ l	10.0 μ l	1 \times
RNase-Free ddH ₂ O	至50 μ l	至20 μ l	—

血液模板用量建议（以20 μ l反应体系为例）：

模板种类	处理方法	用量范围	最佳用量
人类抗凝血	无需处理	0.1-5 μ l	1 μ l
鼠类抗凝血	无需处理	0.1-5 μ l	1 μ l
禽类抗凝血	无需处理	0.1-5 μ l	1 μ l
人类血凝块	进行液化处理 (液化柱 天根目录号RK165)	0.1-5 μ l	1 μ l
干血斑	利用打孔器打下干血斑	1-2片直径3 mm 的干血斑	1片直径3 mm 的干血斑
培养细胞	离心除去培养基，用适量TE悬浮 细胞，以细胞悬液为模板	1-10 ³ 个	100个

3. 按照下表设置PCR反应程序。

反应程序：

阶段	循环	温度	时间	内容
预变性	1×	95℃	3~5 min	预变性
PCR反应	35-40×	94℃	15 sec	变性
		60℃	20 sec	退火
		72℃	1 min	延伸
补充延伸	1×	72℃	5 min	补充延伸

4. 结果检测：反应结束后取10 μl反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。