

YALEPIC® 血液直扩 PCR 试剂盒 YALEPIC® Blood Direct PCR Kit

产品货号

YEM41026

保存及运输条件

2 × YALEPIC® Blood Direct PCR MasterMix (Dye) 需-20℃避光保存, ≤0℃运输; 其余组分 2~8℃保存, 长期-20℃保存, 避免反复冻融。

产品概述

YALEPIC® Blood Direct PCR Kit 采用特殊修饰的热启动 DNA Polymerase、高度优化的裂解液及 PCR 缓冲体系, 可有效降低血液中的抑制剂对扩增的影响, 扩增产物为平末端。可用于直接扩增的血样类型包括: 新鲜血液、4℃储存血液、冷冻血液, 且兼容所有常规抗凝剂 (EDTA、柠檬酸盐、肝素等)。无需纯化, 只需简单裂解处理, 极大缩短了实验耗时。反应时只需加入引物和模板即可进行扩增, 减少了开盖、移液等操作, 显著降低样品交叉污染并且提高了检测通量和结果的可重复性。体系中预混有电泳缓冲液和染料, 反应结束后可直接电泳, 使用方便快捷。

适用范围

新鲜血液、4℃储存血液、冷冻血液。

自备试剂及仪器

引物; 模板; Nuclease-free 离心管; PCR 仪; 水浴锅/恒温金属浴; 涡旋振荡仪器。

产品组分

组分	规格
YALEPIC® Blood Direct PCR Lysis Buffer	15 ml
2 × YALEPIC® Blood Direct PCR MasterMix (Dye)	2 × 1.25 ml
Nuclease-free ddH ₂ O	5 ml

实验流程

● 样本 DNA 预处理

1. 按 1:1 的比例, 分别取血液样本与 YALEPIC® Blood Direct PCR Lysis Buffer 于 Nuclease-free 离心管中。(如 50 μ l 血液样本, 加入 50 μ l 直扩裂解液)
2. 离心管涡旋混匀, 95°C 金属浴, 1,500 rpm 孵育 5~10 min;
3. 12,000 rpm 离心 2 min, 取上清置于新的 Nuclease-free 离心管中;
4. 上清可直接用于下一步实验, 也可置于 4°C 短暂保存, 或 -20°C 长期保存。

● PCR 扩增

1. 使用试剂前确保彻底融化并混匀, 加入反应体系的其他组分应充分混匀;
2. 计算所加各组分的体积 (参考下面表格), 并小心吸取准确体积到 PCR 反应管内;
3. 盖好 PCR 管盖, 瞬时离心。

组分	20 μ l 体系
2 $\times$ YALEPIC® Blood Direct PCR MasterMix (Dye)	10 μ l
10 μ M Forward Primer	0.5 μ l
10 μ M Reverse Primer	0.5 μ l
Template	0.8~1 μ l
Nuclease-free ddH ₂ O	Up to 20 μ l

注:

- 1) PCR 扩增体系中引物终浓度为 0.2~0.4 μ M 可以得到较好结果。
- 2) 裂解产物加入量不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。
- 3) 配制好 PCR 反应体系, 置于涡旋仪上涡旋混匀, 然后瞬时离心将反应液集于管底。

● PCR 反应程序推荐

程序	温度	时间	循环
预变性	98°C	3 min	1 cycle
变性	98°C	10 sec	35 cycles
退火	55 ~ 65°C	10 sec	
延伸	72°C	10-30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1 cycle

注:

- 1) 循环反应中的退火温度需要根据引物的 T_m 值进行调整, 一般设置成高于引物 T_m 值 2 ~ 3°C 即可; 对于难扩增的片段, 可调节退火温度 (56-68°C 之间梯度调节寻找最适退火温度), 和延长延伸时间来实现高效扩增。
- 2) 根据扩增片段长度设置延伸时间, 对于保真性要求较高的实验, 建议适当降低延伸速度。

本品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断。