

产品概述

Blood Direct Premix 具有很强的血源性抑制物耐受性，是血液样品免核酸提取、直接进行 DNA 扩增的专用试剂。本品经过特殊优化，因此不但具有优良的特异性和血源性抑制物抗性，而且对 GC 含量在 40%~80%片段的直接扩增均有良好的效果。

试剂组成

2×Blood Direct Premix

*本试剂已含有抗抑制扩增酶、PCR Buffer、MgCl₂、dNTPs、稳定剂等成分。

保存条件

-20℃长期保存，4℃可保存 3 个月。使用前应混匀，避免反复冻融。

PCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2×Blood Direct Premix	12.5 μL	25 μL	1×
25×Primer Mix ^{1,2}	1 μL	2 μL	1×
Sample ³	X μL	2X μL	—
ddH ₂ O	To 25 μL	To 50 μL	—

1. 推荐引物反应终浓度为每条引物 0.2 μM，可在 0.1~1 μM 范围内调整。
2. 推荐本体系应用于长度小于 1.2 kb、GC 含量 80%以内的基因扩增检测。
3. 推荐人全血加入量：EDTA 抗凝血 4%~45%，优选 8%~20%；肝素抗凝血和柠檬酸钠抗凝血 8%~20%；当扩增高 GC（60%~80%）片段时全血加入量一般为 8%，且必须在 4%~10%范围调整。

反应条件

步骤	温度	时长	循环数
预变性	95℃	5 min	1
变性	95℃	30 s	35
退火	55~65℃	30 s	
延伸	72℃	60 sec/kb	
延伸	72℃	7 min	1
—	4℃	∞	Hold

质量控制

1. 功能检测：qPCR 的敏感性、特异性、可重复性。
2. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

常见问题及解答

1. 扩增产物少或没有扩增：
 - (1) PCR 程序预变性条件为 95℃ 5 min，以充分裂解血细胞、变性核酸模板。
 - (2) 建议使用高质量引物。
 - (3) 增加 PCR 循环数。

货号: MD205

2×Blood Direct Premix

2024V01



(4) 降低退火温度，必要时进行退火温度梯度尝试。延长退火时间至 90 sec~3 min 可增加扩增产物量。

(5) 检查引物的扩增性能和特异性。

(6) 须在上述推荐人全血加入量范围内调整全血模板使用量。

(7) 产物过长时，需重新设计引物，产物长度不应超过 1.2 kb。

(8) 延长循环内延伸时间。

2. 存在非特异性扩增：

(1) 减少循环数。

(2) 提高退火温度。

(3) 减少引物使用量。

(4) 优化引物设计。