

描述：该制品专为抗凝全血样品直接进行 PCR 设计，其 Blood DNA Pol 聚合酶对全血样本中的杂质具有高度耐受性（最高加入全血样品为 10%）。在进行血液直扩时，可轻松扩增出 4.5kb 的 gDNA 片段。该酶的延伸速度为 4kb/min，产物部分带有“A”尾巴，因此产物可用于 TA 克隆。该制品中已经含有溴酚蓝染料，PCR 扩增完毕后可直接点样于琼脂糖凝胶，无需再加入 DNA Loading Buffer。

组分

名 称	100T	1000T
2xBlood Buffer-Mix	1 ml	1 mlx10
Blood DNA Pol (0.4U/μl)	100 μl	1 ml

(1) 储存：-20℃ 可保存 2 年。

(2) 2xBlood Buffer-Mix 包含：反应缓冲盐、独特抗血因子、dNTP、Mg²⁺、溴酚蓝。

适用样本：哺乳动物抗凝全血、血清、血浆

性能：以人 EDTA 抗凝全血为样本扩增 4.5kb 的片段。

使用方法

1. 按以下组分配制 PCR 反应液

2xBlood Buffer-Mix	10 μl
Blood DNA Pol (0.4U/μl)	1 μl
上游引物 (10 μM)	0.25 μl
下游引物 (10 μM)	0.25 μl
人抗凝全血	0.5 μl
ddH ₂ O	8 μl
Total (总计)	20 μl

关于样本的用量：由于引物的扩增效率、产物大小不同，样品的加入量可能会存在差异，推荐的用量为 0.5 μl，有时需要调整样品的加入量，最高可加入 2 μl，进行测试。过高的样本加入量，可能会由于样本中抗凝剂的浓度过高，螯合 PCR 反应体系中的 Mg²⁺，而导致扩增失败。

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

		<1kb	1-2kb	>2kb
预变性	95℃	2min	2min	2min
循环 1	95℃	10s	10s	10s
5 Cycle	65℃	30s	45s	30s/kb
循环 2	95℃	10s	10s	10s
23 Cycle	55℃	10s	10s	10s
	72℃	30s	45s	30s/kb
末延伸	72℃	2min	2min	2min

特殊说明：(1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中，引物 T_M 值 (50-70℃) 范围内均获得良好的扩增。该程序扩增总循环数为 28 (5+23)，如产物扩增亮度不足，则增加循环 2 的次数到 25-28 个，通常不宜超过 28。(2) 如果仍然不能获得良好的扩增结果，则可以改变，循环 2 中的退火温度为 50-65℃ (上表中为 55℃)。

使用注意事项（必读）

- (1) 由于抗凝全血含有大量的蛋白，在 PCR 反应结束后，会有大量絮状变性蛋白质，此时用 mini 离心机短离心 10-30s 后，再进行电泳，否则会影响电泳的迁移率。
- (2) 扩增片段 GC 含量>60%时，推荐添加 5xQ Solution (货号：A3002) 至 1x 浓度，来提升高 GC 含量的扩增性能。