

## Blood PCR Enhancer (2X)

产品编号	产品名称	包装
D7245	Blood PCR Enhancer (2X)	2ml

### 产品简介:

- 碧云天研发的Blood PCR Enhancer (2X), 即耐血PCR增强剂(2X), 是一种使用碧云天的D7241 HemoTaq™ DNA Polymerase (Blood-resistant)或D7243 HemoTaq™ HF DNA Polymerase (Blood-resistant)时, 克服因模板高GC含量所导致的PCR扩增障碍的PCR增强剂。高GC含量DNA片段的扩增一直是分子生物学操作过程中的一个难点, 本产品可用于含有肝素、柠檬酸钠以及EDTA等抗凝血的直接PCR反应, 从而大大提高了高GC含量DNA模板的扩增效率及扩增的特异性。本产品也可以用于普通PCR时扩增高GC含量的目的片段。
- Blood PCR Enhancer (2X)可以适用于商业化的常见的多种耐血DNA聚合酶, 如碧云天的D7241 HemoTaq™ DNA Polymerase (Blood-resistant)和D7243 HemoTaq™ HF DNA Polymerase (Blood-resistant), NEB的Hemo KlenTaq等。
- 本产品直接扩增EDTA抗凝血中高GC含量基因的效果参考图1。

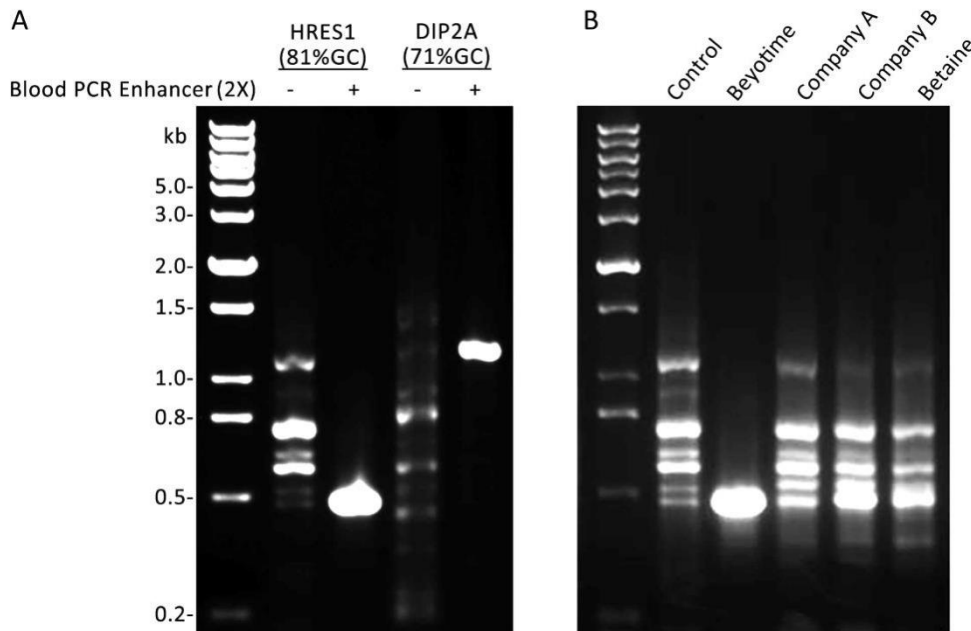


图1. 使用Blood PCR Enhancer (2X)扩增高GC含量目的基因的电泳效果图。图A中可见, HRES1基因488bp片段(GC含量81%)和DIP2A基因1185bp片段(GC含量71%), 在添加Blood PCR Enhancer (2X)后可以扩增出单一的非常明亮的特异性条带, 但不添加时就不能扩增获得特异性的目的条带。图B中可见, 扩增HRES1基因488bp片段(GC含量81%)时, 使用碧云天生产的本产品能扩增出单一的条带, 而使用公司A和B的类似产品主带比较微弱并且杂带很多, 使用常见的最终浓度为1.3M的甜菜碱(Betaine)的扩增高GC含量的该片段时效果也欠佳。

- 本产品如果用于50微升的PCR反应体系, 足够用于80个反应; 如果用于20微升的PCR反应体系, 足够用于200个反应。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7245	Blood PCR Enhancer (2X)	2ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存。

### 注意事项:

- 在使用本产品Blood PCR Enhancer (2X)的同时, 必须同时使用和耐血DNA聚合酶配套的最终浓度为1X的PCR Buffer。
- 本产品溶解时如果有结晶状沉淀物, 可以在50°C水浴温育片刻促进溶解, 并确保完全溶解后使用。
- 请尽量使用新近采集的抗凝血样本进行检测; 如果是冻存的样本, 尽量避免反复冻融, 以免在冻融过程中导致目的基因的

断裂和降解。

- 设置PCR反应体系时，抗凝血的推荐用量为PCR体系总体积的5-10%左右，可以直接添加到PCR体系中，无需进行任何额外处理。
- PCR反应结束之后，建议3000-5000g离心3-5min以沉淀血细胞碎片，便于吸取上清用于电泳分析等。注意：由于抗凝血本身的原因，PCR结束后在PCR管底部会出现透明凝胶状物质，此为正常现象。
- 由于PCR反应非常灵敏，可以扩增目的基因序列超过1000万倍，在操作时请注意避免微量待扩增DNA的污染，并尽量考虑设置不加模板的空白对照以确认是否有待扩增DNA的污染。
- 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，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

1. PCR反应参数的设置请参照特定的耐血DNA聚合酶的说明书进行。通常对于扩增高GC含量的DNA模板，延伸时间可以比常规的延伸时间适当延长一些。
2. PCR反应体系的设置可以参考特定的耐血DNA聚合酶进行，仅仅添加反应总体积一半的本试剂盒所提供的Blood PCR Enhancer (2X)即可。可以参考如下反应体系设置PCR反应：
  - a. 融解并混匀PCR反应所需的各种溶液。将HemoTaq™ DNA Polymerase置于冰浴上或冰盒内。
  - b. 参考下表在冰浴上设置PCR反应体系(如果有多个类似的PCR反应，可以先配制大体积的包含水、buffer、dNTP和HemoTaq™酶的混合物，然后分装到各PCR反应管内。根据情况，有时混合物中也可以包括引物)：

试剂	20μl体系	50μl体系	终浓度
Nuclease-Free Water	(4-x) μl	(10-y) μl	-
10X HemoTaq™ PCR Buffer	2μl	5μl	1X
Blood PCR Enhancer (2X)	10μl	25μl	1X
dNTP (2.5mM each)	2μl	5μl	0.25mM each
引物混合物(10μM each)	1μl	2.5μl	0.5μM each
HemoTaq™ DNA Polymerase	1μl	2.5μl	-
抗凝全血	xμl	yμl	-
总体积	20μl	50μl	

### 注意：

- (a) 模板使用量：作为PCR模板的抗凝血用量一般为PCR反应体系总体积的1-20%，建议起始使用量为5%。如果PCR反应用于检测基因组的DNA片段，可以适当减少抗凝血用量；如果用于检测血液样品中某种病毒或细菌等微生物的目的DNA片段，建议使用50μl的PCR体系，并使用较大的模板血量。对于高GC含量的PCR扩增，可以使用扩增高GC含量DNA片段的D7245 Blood PCR Enhancer (2X)，或者尝试向PCR体系中加入终浓度1-10% (体积百分比)的DMSO。
- (b) 引物浓度：通常引物的终浓度为0.5μM时可获得良好的检测效果，也可以根据情况在0.1-1.0μM范围内调整引物的终浓度。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度。
- c. 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀，室温离心数秒，使液体体积聚于管底。
- d. 如果所使用的PCR仪有热盖则省略本步骤。如果PCR仪没有热盖，则在管内滴入一滴矿物油(ST275 Mineral oil (矿物油))。
- e. 把设置好的PCR反应体系置于PCR仪上，开始PCR反应。PCR反应参数的设置可以参考该耐血DNA聚合酶的常规参数，同时可以考虑适当延长延伸时间。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7241S	HemoTaq™ DNA Polymerase (Blood-resistant)	200次
D7241M	HemoTaq™ DNA Polymerase (Blood-resistant)	1000次
D7243S	HemoTaq™ HF DNA Polymerase (Blood-resistant)	200次
D7243M	HemoTaq™ HF DNA Polymerase (Blood-resistant)	1000次
D7245	Blood PCR Enhancer (2X)	2ml
D7248S	PlantTaq™ DNA Polymerase (Chlorophyll-resistant)	200次
D7248M	PlantTaq™ DNA Polymerase (Chlorophyll-resistant)	1000次
D7285S	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (2X)	100次
D7285M	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (2X)	500次
D7287S	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (HF, 2X)	100次
D7287M	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (HF, 2X)	500次
D7289S	Easy-Load™ Plant Direct PCR Master Mix (2X)	100次
D7289M	Easy-Load™ Plant Direct PCR Master Mix (2X)	500次

Version 2019.03.14