



# SuperNova Blood Direct PCR Kit

## SuperNova 血液直扩试剂盒

版本号: V230601

货号: A161  
保存: -20°C  
运输: 低温

| 货号      | 规格      |
|---------|---------|
| A161-02 | 200 rxn |

### 【产品概述】

本产品是一款可直接对全血样本进行 PCR，无需进行 DNA 纯化或样品预处理的试剂盒。可用于直接扩增新鲜血液、4°C 保存血液、冷冻血液、储存在 Whatman903 和 FTA 商用卡上的干血渍，且兼容所有常规抗凝剂（EDTA、柠檬酸盐、肝素等）。本产品采用 SuperNova 高保真酶，对全血样品中 PCR 抑制剂具有超强抵抗力，可扩增全血浓度高达 20%；对于长达 10 kb 的基因组片段可良好扩增。本产品的扩增产物为平末端，如需要进行 TA 克隆，需将扩增产物纯化后进行加 A 反应。本产品含有阳性对照的引物预混液 Positive Control Primer Mix，能够从哺乳动物和大多数脊椎动物的 sox21 基因上游保守序列中扩增出长度 237 bp 的片段。

### 【产品特点】

- 超简操作：无需 DNA 提取，全血样本直接进行 PCR 扩增鉴定。
- 超强抑制剂耐受性：在常用抗凝剂存在的情况下，提供稳定一致及可靠的性能。
- 全面样品类型覆盖度：适用于不同类型全血样本的 PCR 扩增反应。

### 【产品组分】

| 组分货号      | 组分名称                                    | A161-02 |
|-----------|---|---------|
| ZA161-101 | 2×SuperNova Blood Direct PCR Mix        | 1 ml×5  |
| ZA161-102 | Positive Control Primer Mix (10μM each) | 100 μl  |

### 【保存条件】

-20°C 保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。

### 【操作步骤】

- PCR 扩增反应：

注：组分解冻后请充分摇匀，使用完毕后及时放回 -20°C。

- 按照下表配制 PCR 反应体系

| 组分                               | 体积        |
|----------------------------------|-----------|
| 全血 <sup>a</sup>                  | X μl      |
| 2×SuperNova Blood Direct PCR Mix | 25 μl     |
| 正向引物 (10 μM) <sup>b</sup>        | 2 μl      |
| 反向引物 (10 μM) <sup>b</sup>        | 2 μl      |
| Sterile Water                    | 补足至 50 μl |

<sup>a</sup> 最适全血模板浓度范围为 1-20%，推荐使用 10% 作为初始尝试条件，尽量避免吸取血液凝块。如果样本是贮存在 Whatman 滤纸卡上的干血渍，则可取约 1-4 个 1mm<sup>2</sup> 带血渍的圆纸片，将其直接放入 PCR 反应液中，无需预处理。

<sup>b</sup> 推荐每条引物使用终浓度为 0.4 μM，引物使用量太多会导致非特异性扩增增加。



2) 阳性对照 PCR 反应体系 (选做)

| 组分  | 体积             |
|---|----------------|
| 全血 <sup>a</sup>                               | 5 $\mu$ l      |
| 2 $\times$ SuperNova Blood Direct PCR Mix     | 25 $\mu$ l     |
| Positive Control Primer Mix (10 $\mu$ M each) | 2 $\mu$ l      |
| Sterile Water                                 | 补足至 50 $\mu$ l |

3) PCR 反应循环的设置

| 流程               | 温度                              | 时间      | 循环数 <sup>f</sup> |
|------------------|---------------------------------|---------|------------------|
| 预变性 <sup>c</sup> | 98 $^{\circ}$ C                 | 5 min   | 1                |
| 变性               | 98 $^{\circ}$ C                 | 15 s    |                  |
| 退火 <sup>d</sup>  | 56-72 $^{\circ}$ C <sup>b</sup> | 15 s    | 35               |
| 延伸 <sup>e</sup>  | 72 $^{\circ}$ C                 | 30 s/kb |                  |
| 终延伸              | 72 $^{\circ}$ C                 | 5 min   | 1                |

<sup>c</sup>预变性 98 $^{\circ}$ C, 5 min 可以让白细胞裂解, 释放基因组 DNA 进行 PCR 扩增。

<sup>d</sup>根据引物 Tm 确定退火的温度, 如扩增效果较差, 可采用温度梯度寻找最适退火温度; 推荐退火时间 15 s。

<sup>e</sup>如发现扩增效率较低, 可适当延长延伸时间至 60 s/kb。

<sup>f</sup>一般而言, 35 个循环已可以扩增足量产物。太多的循环将会导致非特异性扩增增加, 且有可能会降低扩增保真度。

2. 扩增产物分析

PCR 完成后, 建议将反应液于 4,000 rpm (1,000 $\times$ g) 离心 1-3 min 以沉淀血细胞碎片, 之后取上清进行下游分析。若需对 PCR 产物进行酶切分析 (如 PCR-RFLP), 应预先将其稀释 2-4 倍, 以去除存在于 PCR 反应液中的盐及其它抑制剂对酶切反应的干扰。

注: 离心取上清该步骤可有效去除多种血液组分。当使用高浓度血液模板时此步尤为重要, 因为经过 PCR 循环, 反应管中会存在大量的血细胞碎片。这些碎片会干扰下游的检测, 如琼脂糖电泳检测。

【补充说明】

1. 吸取抗凝血, 尤其是长期存放过的抗凝血时, 应尽量避免吸取血液凝块。
2. 全血短期保存 (少于 3 个月), 可置于 4 $^{\circ}$ C; 长期保存, 推荐存于 -20 $^{\circ}$ C 或者 Whatman FTA/930 卡上。
3. 2 $\times$ SuperNova Blood Direct PCR Mix 扩增产物为平端, 如需要进行 TA 克隆, 加 A 之前必须进行 DNA 纯化。
4. 阳性对照引物序列:  
Primer 1(24-mer)5'- AGCCCTGGGGASTTGAATTGCTG -3', Tm : 69.5 $^{\circ}$ C。  
Primer 2(27-mer)5'- GCACTCCAGAGGACAGCRGTGTCAATA -3', Tm : 67.9 $^{\circ}$ C。
5. 常见问题与解决方案

| 常见问题        | 解决方案  |
|-------------|---|
| 无扩增产物或者产物量少 | 1. 增加循环数<br>2. 优化退火温度<br>3. 尝试不同的血液用量   |
| 产物呈现弥散条带    | 1. 产物电泳检测前离心取上清<br>2. 延伸时间不应超过 60 s/kb<br>3. 优化退火温度<br>4. 减少总循环数<br>5. 降低引物浓度<br>6. 尝试不同的血液用量 |

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。