

SNP 基因分型血液 qPCR 直扩试剂盒(增强型)**Blood-Direct SNP Genotyping qPCR Enhanced Kit**

货号	规格	反应次数
BDAG0039-1ml	1ml	100rxn (10ul/rxn)
BDAG0039-5ml	5ml	500rxn (10ul/rxn)
BDAG0039-10ml	10ml	1000rxn (10ul/rxn)

运输：冰袋运输，储存：-20℃保存可保存 24 个月。

试剂组分：

组分名称	货号		
	BDAG0039-1ml	BDAG0039-5ml	BDAG0039-10ml
Blood-Direct SNP Genotyping qPCR Enhanced Master Mix (2×)	1 mL	5 mL	10 mL
ROX Reference I (50×) *	40 μL	200 μL	400 μL
ROX Reference II (50×) *	40 μL	200 μL	400 μL
Buffer BL02	7.5 mL	37.5 mL	75 mL

*备注：**ROX Reference** 为另行选配试剂，本产品未含；不同型号 Real-Time PCR 仪，使用方法如下：

1) **ROX Reference I (50×)** 为高浓度 ROX，适用于如下型号 Real Time PCR 仪：

- Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；

- Applied Biosystems 7900 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；

- Step One Plus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。

2) **ROX Reference II (50×)** 为低浓度 ROX，适用于如下型号 Real Time PCR 仪：

- Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)；

- Applied Biosystems 7500 FAST Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)。

3) 当使用于如下型号 Real Time PCR 扩增仪时，无需加入 **ROX Reference**：

- Roche、Bio-Rad、TaKaRa 等其它无需加入 ROX 校准染料的 Real-Time PCR 仪



产品描述

本产品可针对各种类型血液样本，无需进行核酸提取，进行 Taqman Probe 法直接 qPCR 反应，用于 SNP 基因分型检测的专用试剂。

用试剂盒中专门开发的 Buffer BL02 组分，对血液样本进行简单预处理后直接进行 qPCR 扩增反应，SNP 分型效果可媲美以核酸提取后的高纯 DNA 产物作为模板的反应效果。

产品中使用了经过定向改造、并进行了抗体封闭的直扩型热启动聚合酶(Hot-Start DNA Polymerase)，配合条件优化的热启动 qPCR 专用缓冲体系，对血液样本中的 PCR 抑制物具有极强的耐受性，可有效避免类似于非热启动型聚合酶导致的非特异性扩增反应，从而提升 PCR 扩增效率。同时也能够针对不同 GC 含量的基因完成理想扩增，获得高灵敏度的 qPCR 检测结果。

产品特点

1. 无需核酸提取或者纯化，直接对原始血液样本进行 SNP Genotyping qPCR 反应，省时省力；
2. 配合专门开发的高性能样本预处理组分 **Buffer BL02**，直接 qPCR 反应效果可媲美以高纯 DNA 提取产物作为模板的反应效果；
3. 使用了抗体封闭的突变型聚合酶，可以进行 Hot Start 法 PCR 反应，与特别开发的 Buffer 系统相结合，具有高扩增效率、高扩增灵敏度的特点；
4. 可针对高 GC 含量片段进行有效扩增，扩增能力强。

扩增体系和条件

1. 样本前处理
 - 1) 向 0.2 mL EP 管（或 96 孔 PCR 板）中加入 75 μ L Buffer BL02；
 - 2) 向 Buffer BL02 中加入等体积（75 μ L）待检血液样本，涡旋混匀、短暂离心；
 - 3) 将 EP 管于 95 $^{\circ}$ C 下加热 5~10min 后，置于平板离心机 4000g 离心 2min（或台式离心机 12,000RPM 离心 2min），可直接吸取上清液作为 PCR 反应模板使用。

备注：

- 1) 建议模板加入量为总反应体积的 10~30%，优选加入量为 20%，请勿超过 30%。如需加入更多量模板请与本公司技术人员联系；
- 2) 样本若需要长期保存请将上清液置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

2. 反应体系构建

组分	体积 (μL/ rxn)		终浓度
	Mix A	Mix B	
Blood -Direct SNP Genotyping qPCR Enhanced Master Mix (2×)	10	25	1×
ROX Reference (50×)	0.4	1	1×
Forward Primer (10 μM)	1.8	4.5	0.9 μM
Reverse Primer (10 μM)	1.8	4.5	0.9 μM
Probe 1 (10 μM)	0.4	1	0.2 μM
Probe 2 (10 μM)	0.4	1	0.2 μM
Template	Variable	Variable	/
PCR-Grade H ₂ O	To 20	To 50	/
总体积/rxn	20	50	

备注:

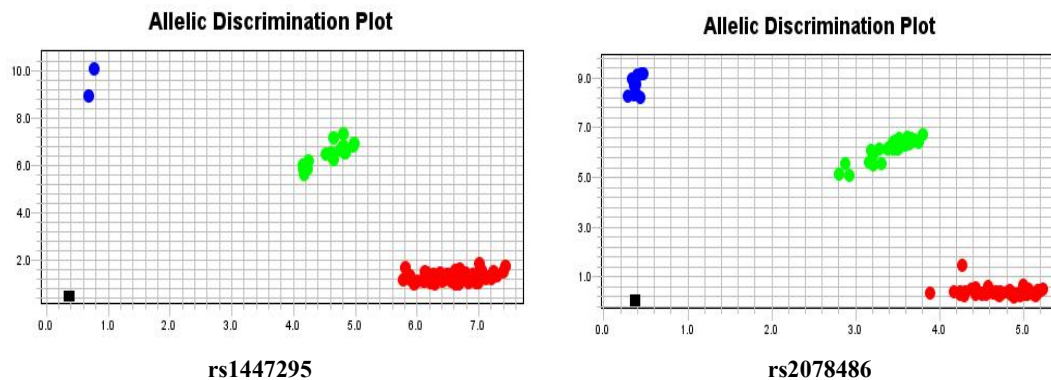
0.9 μM 终浓度的引物(Primer) 和 0.2 μM 终浓度探针(Probe), 可满足大部分的实验要求, 用户亦可根据经验对 Prime 和 Probe 浓度进行调整。

3. 反应程序

Step	Temp.	Time	Cycle
Initial Denaturation	95°C	5 min	1 Cycle
Denaturation	95°C	15 sec	35~45 Cycles
Annealing / Extension / Data Collection	60°C	1 min	

应用实例

使用本试剂盒,对 95 个血液样本进行处理后,使用直接 qPCR 方法对两个位点(rs1447295 和 rs2078486)进行 SNP 基因分型,实验结果显示可以成功分型,且 cluster 集中。



注意事项

1. Master Mix 使用前上下轻柔颠倒数次,确保各试剂成份完全混匀,并短暂离心收集试剂至容器底部,试剂如未充分混匀可能导致反应性能下降;
2. Master Mix 置于 4℃ 的保存时间不应超过 1 周,长期保存置于 -20℃;
3. 配制 PCR 反应 Mix,各成份依次加入后需涡旋混匀并进行短暂离心;
4. 请避免核酸酶污染样本,否则可能造成扩增反应出现困难的情况;
5. ROX Reference 对光敏感,应避免强光照射;
6. 本产品仅供科学研究使用。