# SNP 基因分型血卡 qPCR 直扩试剂盒(增强型)

# Blood-Card-Direct SNP Genotyping qPCR Enhanced Kit

| 货号 | 规格 | 反应次数 |
|---|---|---|
| BDAG0040-1ml | 1ml | 100rxn（10ul/rxn） |
| BDAG0040-5ml | 5ml | 500rxn（10ul/rxn） |
| BDAG0040-10ml | 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 | | |
|---|---|---|---|
| | BDAG0040-1ml | BDAG0040-5ml | BDAG0040-10ml |
| Blood-Card-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 BCL02 | 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。*



www.biodragon.cn
0512-68216582
sales@biodragon.cn
tech@biodragon.cn

## 产品描述：

本产品可针对血卡或血斑样本，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 BCL02 组分，对血卡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，直接对原始血卡样本进行 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 BCL02，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 50 μL Buffer BCL02；

2) 用剪刀（或者打孔器）剪取 1~2 片 2 $mm^2$ 尺寸的干血片，加入到 Buffer BCL02 中，瞬离确保干血片完全浸入到液体中；

3) 将 EP 管于 95℃下加热 5min 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。

2. 反应体系构建



www.biodragon.cn
0512-68216582
sales@biodragon.cn
tech@biodragon.cn

| 组分 | 体积 (μL/ rxn) | | 终浓度. |
|---|---|---|---|
| | **Mix A** | **Mix B** | |
| Blood-Card-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 $H_2O$ | 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

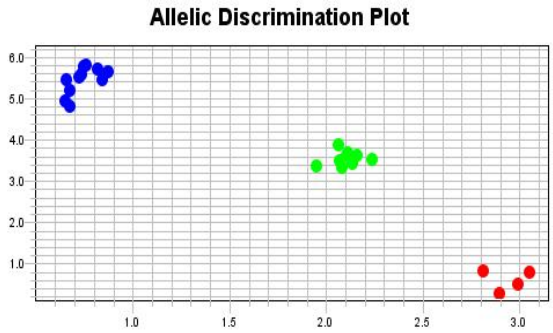
| **Step** | **Temp.** | **Time** | **Cycle** |
|---|---|---|---|
| Initial Denaturation | 95℃ | 5 min | 1 Cycle |
| Denaturation | 95℃ | 15 sec | 35~45 Cycles |
| Annealing / Extension / Data Collection | 60℃ | 1 min | |



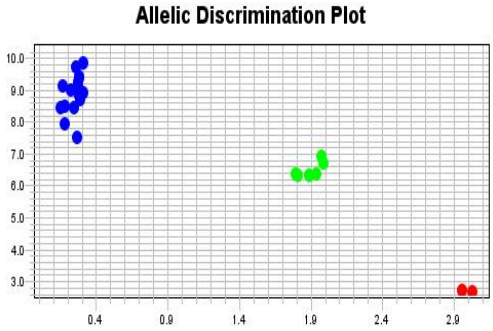
www.biodragon.cn
0512-68216582
sales@biodragon.cn
tech@biodragon.cn

## 应用实例

使用本试剂盒，对批量血卡样本进行处理后，使用直接 qPCR 方法对两个位点（rs1801131 和 rs1447295）进行 SNP 基因分型，实验结果显示可以成功分型，且 cluster 集中。




rs1801131




rs1447295

## 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。



www.biodragon.cn
0512-68216582
sales@biodragon.cn
tech@biodragon.cn