

Version: AH 3.2 (2021.04.01修订)

2×Spark SNP Probe qPCR Mix

目录号: AH0204

01/产品组分

序号	组分	AH0204 500 rxn (20μL/rxn)
1	2×Spark SNP Probe qPCR Mix	1.25 mL×4

本产品使用特殊的ROX Reference Dye, 适用于所有qPCR仪器(无ROX校正仪器, 低浓度ROX校正仪器, 高浓度ROX校正仪器), 无需在不同的仪器上调整ROX的浓度:

Applied Biosystems 5700,7000,7300,7700,7900,7900HT,7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus,7500,7500 Fast,ViiA™7
Stratagene MX4000,MX3005P,MX3000P
Bio-Rad iQ5,Chromo4,iCycler iQ,CFX96,CFX384,Opticon,Opticon 2,MyiQ,MiniOpticon
Eppendorf realplex 2s,Mastercycler ep realplex
Qiagen/Corbett Rotor-Gene Q,Rotor-Gene 3000,Rotor-Gene 6000
Roche LightCycler 2.0,LightCycler 96,LightCycler 480及其他qPCR仪

02/保存条件

本产品所有组分-20℃避光保存。

03/产品概述

本产品是一种适用于探针法进行单核苷酸多态性 (SNP) 分型的专用预混液, 只需额外加入引物、Taqman MGB 探针、模板即可进行 SNP 分型, 使用方便。本预混液以 Spark HotMaster Taq DNA Polymerase 为核心酶, 配合精心优化的 Buffer, 增加了在低浓度模板和复杂模板上的分型成功率。本产品引入了 dUTP/UDG 防污染系统, 室温下即可发挥作用, 清除体系中存在的污染, 保证了分型结果的准确性。同时本产品中含有特殊的 ROX Reference Dye, 适应于所有 qPCR 仪器, 无需在不同的仪器上调整 ROX 的浓度。

04/质量控制

纯度检测：所有组分经检测均无核酸外切酶、核酸内切酶、核酸残留。

功能检测：以 1-10 ng 人基因组对 rs4947963 位点进行分型测试。

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 本产品中含有特殊的 ROX Reference Dye，适应于所有 qPCR 仪器，无需在不同的仪器上调整 ROX 的浓度。
- ◇ 建议 PCR 反应液在冰上配制，可以提高扩增特异性，减少背景。
- ◇ 请冰上融化后，轻轻上下颠倒，混合均匀，避免起泡，并瞬时离心后使用。

06/建议PCR条件

以 10 μ L，20 μ L 反应体系为例，其他体系可以按照表格 Final Concentration 所示比例进行调整配制：

1. 配制PCR反应液：

Components	Volume (10 μ L)	Volume (20 μ L)	Final Concentration
2 \times Spark SNP Probe qPCR Mix	5 μ L	10 μ L	1 \times
Forward Primer (10 μ M)	0.9 μ L	1.8 μ L	0.9 μ M each
Reverse Primer (10 μ M)	0.9 μ L	1.8 μ L	0.9 μ M each
TaqMan MGB Probe A (10 μ M)	0.2 μ L	0.4 μ L	0.2 μ M each
TaqMan MGB Probe B (10 μ M)	0.2 μ L	0.4 μ L	0.2 μ M each
gDNA	0.5-5 ng	1-10 ng	as required
RNase Free H ₂ O	up to 10 μ L	up to 20 μ L	

▲ 反应体系中各成分的量可根据以下原则进行调整：

- 1) 为了使用方便可以把引物和探针混合成 20 \times assay (例如 100 μ M Primer F 18 μ L, 100 μ M Primer R 18 μ L, 100 μ M Probe A 4 μ L, 100 μ M Probe B 4 μ L, 用 TE 补齐至 100 μ L) 推荐引物反应终浓度为 900 nM, 探针反应终浓度为 200 nM。
- 2) 因为 2 \times SPARK Geno-SNP Probe Master Mix 中包含特殊的 ROX, 因此不能使用 ROX 标记的探针。
- 3) 引物和探针可以购买 Taqman genotyping assay 或者通过专业的软件 (例如 Primer Express Software) 进行设计。
- 4) 每次实验均需要设置一定数目的无模板对照 (NTC) 和已知基因型的阳性对照。
- 5) 如果混样完成后不能立刻进行 PCR 反应, 可以把混合完成的样品放入 2-8 $^{\circ}$ C 避光环境中保存, 存放时间至多 72 小时。

2. PCR反应及终点信号采集

	预变性	Reps: 1	95 $^{\circ}$ C	30 sec
扩增	循环反应	Reps: 45	95 $^{\circ}$ C	10 sec
			60 $^{\circ}$ C	30 sec
采集	终点信号的采集	Reps: 1	60 $^{\circ}$ C	30 sec

1 热敏的 UDG 酶在室温条件下即可发挥功能, 在 PCR 程序设置前就可以进行工作, PCR 95 $^{\circ}$ C 预变性时 UDG 酶失活。

2 如果 PCR 扩增完成后不能立即进行终点信号采集，可以将样品放入 2-8℃ 避光环境中保存，存放时间至多 72 小时。

07/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

AC0202 SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒（含基因组 DNA 清除柱）

AC1709 RNase Free and DNase Free 纯水

AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit（With gDNA Eraser）

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

