



NuHi® Ez Advanced SNP Mix 说明书

产品货号: NH9240

产品规格: 1mL/管, 5mL/管, 50mL/瓶

产品简介

NuHi® Ez Advanced SNP Mix 是采用探针法进行 SNP 分型的专用 PCR 预混液, 尤其适用于样本(血液/血卡/唾液样本/咽拭子)直扩。也可用于 TaqMan 探针法多重荧光定量 PCR 定性/半定量检测

本制品由经化学修饰的 Taq DNA 聚合酶、dNTP 混合物及缓冲液所组成。在使用时, 仅需加入模板、引物及探针。操作过程简单快速。

用途

本制品适用于 MGB 探针法的基因 SNP 分型, 尤其适用于样本(血/血卡)直扩。可对 SNP 进行精确分型, 可在高通量下准确检测被测样品基因型。也可用于 TaqMan 探针法多重荧光定量 PCR 定性/半定量检测

储存条件

-20℃ 储存。使用时推荐分装保存, 避免反复冻融。

注意事项

以下为使用本产品时的注意事项, 请务必在使用前认真阅读。

- 1、使用时请上下颠倒轻轻混匀, 避免起泡(请勿使用振荡器), 并离心后使用。若试剂未混匀, 其反应性能会有所下降。
- 2、在配制、分装反应液时请一定使用新的(无污染的)枪头、离心管等。
- 3、在配制 PCR 反应液时不建议每管单独配制。若需同时进行 N 个反应, 推荐预先配制 N+1 或 N+2 次 PCR 反应所需各种成分的混合物, 同时推荐使用可进行连续滴定的电子移液枪将上述 PCR 混合液分加于每个 PCR 反应管中, 以保证较高的实验重复性及可信度。
- 4、在 PCR 反应时, 推荐设置三管重复, 且设置 NTC (No template control) 组, 即阴性对照组, 方便检测体系是否存在污染(不必每次都设置 NTC 实验组)。
- 5、为获得良好实验结果, 保证较好的实验重复性, 推荐使用紫外分光光度计对引物的实际浓度进行测定(测定方法见引物及探针浓度测定)。
- 6、本品仅供科研使用。

使用方法

- 1、直扩样本处理流程(推荐使用新海简易直扩处理液货号: NH9243)
 - a) 血液/血卡检测: 取样本简易直扩处理液 78μL, 分装至 96 孔 PCR 反应板、8 联管或离心管中; 取抗凝血 2μL 或直径约 2mm 的一片血卡, 加入至样本简易直扩处理液中;
口腔拭子检测: 取 1.5ml EP 管加入 200 ul -500ul 然后将采集好样本的口腔拭子加入到 EP 管中(可根据拭子大小调整加入简易直扩处理液体积)



咽拭子检测：取 1.5ml EP 管加入 300 ul -1000ul 然后将采集好样本的口腔拭子加入到 EP 管中(可根据拭子大小调整加入简易直扩处理液体积)

b) 轻轻微震荡含样品的处理液 10s-30s, 简短离心 5-10s;

c) 处理后样品室温静置时, 进行 PCR MIX 配制分装

d) MIX 分装完成后, 处理后样本作为模板使用加入 MIX 中。推荐 25 μ LPCR 体系中加 1 μ L 模板。

注：a)/d)两步骤需间隔 3min 以上。

2、纯模板检测

使用商品化核酸提取试剂盒纯化后模板可直接加入体系中使用（加入体积 1-5ul）

3、按照下表配制 PCR 反应液（以 25ul 体系为例）。

试剂	使用量	试剂终浓度
NuHi® Ez Advanced SNP Mix (2 \times)	12.5 μ L	1 \times
PCR Forward Primer (25 μ M)	0.5 μ L	500nM
PCR Reverse Primer (25 μ M)	0.5 μ L	500nM
等位基因 1 探针(25 μ M)	0.2 μ L	200nM
等位基因 2 探针(25 μ M)	0.2 μ L	200nM
模板	1 μ L	1-100ng
灭菌水	Up to 25 μ L	/

注：推荐 SNP 检测引物使用浓度为 0.5 μ M, 探针使用浓度为 0.2 μ M。多重荧光定量 PCR 引物使用浓度为 0.2 μ M, 探针使用浓度为 0.2 μ M 可根据实际效果对引物及探针浓度进行优化。

4、PCR 反应液配制完成后, 上下颠倒混匀并离心, 将反应液分装, 加入 96 孔 PCR 反应板中, 约 2000g/min 转速下离心 1-2min, 封口膜封口, 置于仪器中进行 PCR 反应。

5、Real Time PCR 反应

推荐使用两步 PCR 反应法进行 Real Time PCR 反应。

反应		温度	时间	循环数
荧光定量 PCR	预变性	95 $^{\circ}$ C	10min*	1
	变性	95 $^{\circ}$ C	10S	45
	退火	60 $^{\circ}$ C	40S	
	延伸			

*激活时间一般推荐为 10min; 如果样本含有抑制物较多, 可适当延长激活时间。

6、PCR 结束后, 读取信号, 分析数据。

联系方式

苏州新海生物科技股份有限公司 NuHigh Biotechnologies Co., Ltd.

地址：苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米科技园 C8 楼 301 单元

邮编：215123

电话：0512-69561912

传真：0512-69561913

网址：www.nuhighbio.com