



人类 DNA 分型盒（补充位点）

使用说明书

1. 产品简介

人类 DNA 分型盒（补充位点）采用 5 色能量转移荧光标记复合扩增技术，能够一次性扩增并同时分析 21 个位点：AMEL、D1S1656、D20S482、D3S1744、D16S539、D10S1435、D12ATA63、D11S2368、D15S659、D9S925、D18S535、D6S477、D22-GATA198B05、D2S1776、D9S1122、D7S3048、D4S2366、D3S3045、D10S1248、D8S1132、D21S2055。

本产品适用于提取 DNA，血斑，唾液斑，口腔拭子等样本，90min 内完成扩增。

本产品可用于亲子鉴定，个体识别，与市面上的常染色体试剂盒结合可用于全同胞亲缘关系的鉴定。

2. 产品信息

表 1 试剂盒组分表

试剂盒	组分名称	50 人份
PCR 试剂	2×PCRMaster Mix	625μl/支*1 支
	5×PrimerSet (FSC)	250μl/支*1 支
	Nuclease-Free Water	1000μl/支*1 支
	Positive Control 9947A	10μl/支*1 支
分型试剂	Allelic Ladder (FSC)	20μl/支*1 支
	Size Standard 500	50μl/支*1 支

3. 试剂运输及贮存条件

试剂盒包括 PCR 试剂和分型试剂，采用冰袋或干冰运输。贮存温度为-25℃~-15℃。启用后请分区贮存。

PCR 试剂：使用时可取出放在 2℃~8℃冷藏，避免反复冻融；为避免污染，建议分装成多支，于-25℃~-15℃冷冻；

分型试剂：使用后放在 2℃~8℃冷藏，避免反复冻融，并避免接触 PCR 试剂，以免造成污染。

4. 扩增检材

表 2 检材推荐用量

检材	10μl 反应体系	25μl 反应体系
FTA 血液采集卡	0.5mmØ ~ 1.2mmØ	1.2mmØ ~ 2mmØ
唾液斑	0.5mmØ ~ 1.2mmØ	1.2mmØ ~ 2mmØ
滤纸血样	0.5mmØ ~ 1.2mmØ	1.2mmØ ~ 2mmØ
常规血液采集卡	0.5mmØ ~ 1.2mmØ	1.2mmØ ~ 2mmØ
DNA	0.1 ~ 1ng	1 ~ 2ng

注：本产品对于 FTA 卡，唾液斑的直接扩增提供单独试剂，可联系本公司销售提供。

5. PCR 体系

配体系前务必将完全融化后的 2×PCRMaster Mix 和 5×PrimerSet (FSC) 漩涡震荡 10 秒钟, 然后短暂离心, 推荐扩增体系 25 μl。请按以下两表配制扩增体系。表 3 为提取 DNA 的 PCR 扩增体系, 表 4 为血痕的直接 PCR 扩增体系。

表 3 PCR 扩增体系 (DNA)

反应组份	10 μl 体系加入量	25 μl 体系加入量(推荐)
2×PCRMaster Mix	5 μl	12.5 μl
5×PrimerSet (FSC)	2 μl	5 μl
模板 DNA (0.1 ~ 2ng)	1 μl	2.5 μl
Nuclease-Free Water	加至 10 μl	加至 25 μl

表 4 PCR 扩增体系 (血痕)

反应组份	10 μl 体系加入量	25 μl 体系加入量(推荐)
2×PCRMaster Mix	5 μl	12.5 μl
5×PrimerSet (FSC)	2 μl	5 μl
血痕	0.5mmØ ~ 1.0mmØ	1.0mmØ ~ 1.2mmØ
Nuclease-Free Water	加至 10 μl	加至 25 μl

注:

- ① 使用前按照扩增样本的数量 (包括阳性及阴性对照) 将 2×PCRMaster Mix, 5×PrimerSet (FSC), Nuclease-Free Water 按照上述比例混合, 为了减少误差和损耗, 可以适当增加 1-2 个混合数量。
- ② 2×PCRMaster Mix 使用时建议在冰上操作, 长时间置于室温可能会降低扩增效率。
- ③ 本产品对于 FTA 卡, 唾液斑的直接扩增提供单独试剂, 可联系本公司销售提供。

6. PCR 扩增程序

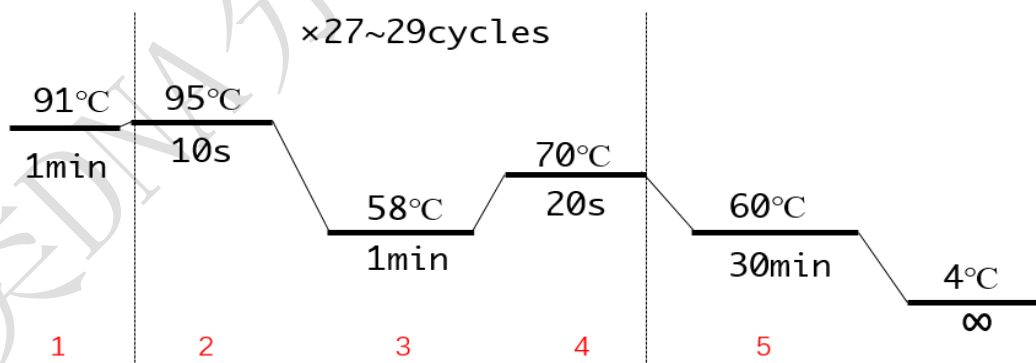


图 1 ABI veriti PCR 仪反应程序设置

注:

- ① 上述 PCR 扩增条件适用于 ABI veriti, ABI 9700 以及各类国产 PCR 仪。可根据分型结果的峰值调整循环次数, 峰值过低时, 适当提高循环数 (2-3 个) 可以提高检测峰值。



深圳华大法医科技有限公司

- ②扩增产物短期避光保存于 2℃~8℃，长期避光保存于-25℃~-15℃，以防荧光淬灭以及 DNA 片段降解。
- ③模板量较大时（如毛囊），推荐减少循环数（23~24cycles）或增加 60℃延伸的时间（>1h）以防止 3' 加 A 不完全造成的分型误差。

7. 遗传分析仪

对于应用 Applied Biosystems®3100/3500 遗传分析仪，建议在使用前 30 分钟，预热炉温至 60℃。设置仪器程序时，请使用以下参数。请参阅仪器用户手册了解更多详细信息。

表 5 遗传分析仪参数设置

遗传分析仪	运行模块	染料组合	进样电压	进样时间
ABI 3500型	HID36_POP4	FGI_5Dye	1.2kV	15-20S
ABI 3500XL型	HID36_POP4	FGI_5Dye	1.2kV	24-30s
ABI 3100/3130/3130xL型	HIDFragmentAnalysis36_POP4	FGI_5Dye 3Iseries	3kV	10-15s

注：进样时间可以根据峰值的高低进行修改。建议修改范围为（5-25秒），增加进样时间可以提高峰值，反之亦然。

8. 光谱校正

3100/3130, 3500/3500XL光谱校正参数和操作参考光谱校正说明书。

9. 电泳检测

(1) 标准上样体系：

组分	体积 (μl)
Hi-Di Formamide	8.8~8.5
Size Standard Salmon500	0.2~0.5
PCR 产物	0.5~1.5

(2) 根据产物浓度、测序仪的灵敏度适当增加或减少PCR产物量。推荐量为1 μl。

(3) 为了样本的正确分型，在电泳时必须加入Allelic Ladder ,Allelic Ladder推荐量为1 μl；

10. 数据分析

(1) 打开Genemapper ID (Genemapper IDx) 软件，初次使用本试剂盒需要先导入提供的Panel, bins, Analysis method, 以及 Size Standard；

(2) 导入电泳数据，选择相应的Panel、Analysis Method和Size standard等分析参数，在“Sample Type”栏中，将Ladder的样本类型改为“Allelic Ladder”；开始分析数据。



深圳华大法医科技有限公司

附表 人类 DNA 分型盒 (FSC) 阳性对照 9947A 分型信息

基因座	荧光标记类型	荧光标记颜色	9947A 基因型
AMEL	FAM	蓝	X,X
D1S1656	FAM	蓝	18.3,18.3
D20S482	FAM	蓝	14,15
D3S1744	FAM	蓝	17,17
D16S539	FAM	蓝	11,12
D10S1435	HEX	绿	10,11
D12ATA63	HEX	绿	13,13
D11S2368	HEX	绿	19,21
D15S659	HEX	绿	14,16
D9S925	HEX	绿	15,16
D18S535	HEX	绿	13,14
D6S477	YTAM	黄	10.2,13
D22-GATA198B05	YTAM	黄	18,19
D2S1776	YTAM	黄	10,10
D9S1122	YTAM	黄	12,13
D7S3048	YTAM	黄	24,24
D4S2366	YROX	红	11,13
D3S3045	YROX	红	9,9
D10S1248	YROX	红	13,15
D8S1132	YROX	红	19,21
D21S2055	YROX	红	19.1,26