



人类 DNA 分型盒（白金）

使用说明书

1. 产品简介

人类 DNA 分型盒（白金）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 23 个位点。兼容并包含美国 CODIS 标准以及公安建库标准的所有位点，并增加 mini-STR 位点 D2S441 和中华民族多态性高的 D1S1656 两个新 CODIS 位点，更加适合中华民族群体 DNA 分型；增加 Yindel，用于疑难案件当中辅助性别鉴定。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，个体识别以及公安建库，DNA 档案制作等多种用途。

2. 产品信息

表 1 试剂盒组分表

试剂盒	组分名称	200 人份	50 人份
PCR 试剂	2×PCRMaster Mix	625 μ l/支*4 支	625 μ l/支*1 支
	5×PrimerSet (PL)	500 μ l/支*2 支	250 μ l/支*1 支
	Nuclease-Free Water	1000 μ l/支*2 支	1000 μ l/支*1 支
	Positive Control 9948	40 μ l/支*1 支	10 μ l/支*1 支
分型试剂	Allelic Ladder (PL)	40 μ l/支*1 支	20 μ l/支*1 支
	Size Standard Salmon500	200 μ l/支*1 支	50 μ l/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 $^{\circ}$ C~-15 $^{\circ}$ C。启用后请分区贮存。

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

分型试剂：使用后放在 2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 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	10 μ l 反应体系	25 μ l 反应体系
FTA 血液采集卡	0.5mm ϕ ~1.2mm ϕ	1.2mm ϕ ~2mm ϕ
唾液斑	0.5mm ϕ ~1.2mm ϕ	1.2mm ϕ ~2mm ϕ
滤纸血样	0.5mm ϕ ~1.2mm ϕ	1.2mm ϕ ~2mm ϕ
常规血液采集卡	0.5mm ϕ ~1.2mm ϕ	1.2mm ϕ ~2mm ϕ
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 (PL) 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 (PL)	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 (PL)	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 (PL), 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

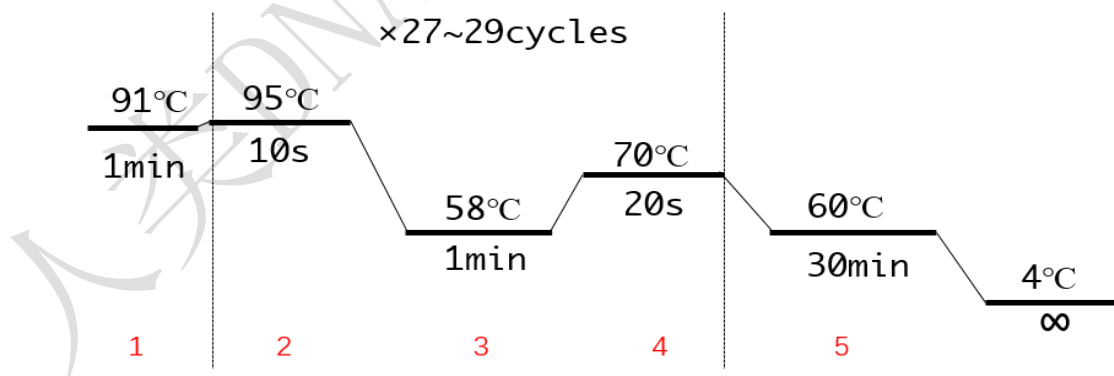


图 1 ABI veriti PCR 仪反应程序设置

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。



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 31series	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（ μ l）
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 μ l。

（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 μ l；

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（白金）阳性对照 9948 分型信息

基因座	荧光标记类型	荧光标记颜色	9948 基因型
Yindel	FAM	蓝	2
AMEL	FAM	蓝	X, Y
D3S1358	FAM	蓝	15, 17
D13S317	FAM	蓝	11
D7S820	FAM	蓝	11
D16S539	FAM	蓝	11
D8S1179	FAM	蓝	12, 13
Penta D	FAM	蓝	8, 12
D19S433	HEX	绿	13, 14
D5S818	HEX	绿	11, 13
D21S11	HEX	绿	29, 30
TPOX	HEX	绿	8, 9
D1S1656	HEX	绿	14, 17
D6S1043	HEX	绿	12
D2S441	YTAM	黄	11, 12
D12S391	YTAM	黄	18, 24
D2S1338	YTAM	黄	23
vWA	YTAM	黄	17
Penta E	YTAM	黄	11
TH01	YROX	红	6, 9, 3
D18S51	YROX	红	15, 18
CSF1PO	YROX	红	10, 11
FGA	YROX	红	24, 26