



## 人类 DNA 分型盒（炎黄）

### 使用说明书

#### 1. 产品简介

人类 DNA 分型盒（炎黄）采用 6 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 28 个位点：Yindel、AMEL、D3S1358、D13S317、D7S820、D16S539、SE33、D10S1248、D5S818、D21S11、TPOX、D1S1656、D6S1043、DX6795、D19S433、D22S1045、D8S1179、Penta E、DYS391、D2S441、D12S391、D2S1338、vWA、Penta D、TH01、D18S51、CSF1PO 和 FGA。该复合扩增体系兼容全球人群，包含美国新 CODIS、欧洲新标准、英国标准、德国标准，国际刑警组织标准以及公安建库标准位点。同时增加了 X-STR 和 Y-STR，可用于疑难案件中性别辅助鉴定。

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         | 625μl/支*4 支  | 625μl/支*1 支  |
|        | 5×PrimerSet (YH)        | 500μl/支*2 支  | 250μl/支*1 支  |
|        | Nuclease-Free Water     | 1000μl/支*2 支 | 1000μl/支*1 支 |
|        | Positive Control 9948   | 40μl/支*1 支   | 10μl/支*1 支   |
| 分型试剂   | Allelic Ladder (YH)     | 40μl/支*1 支   | 20μl/支*1 支   |
|        | Size Standard Salmon500 | 200μl/支*1 支  | 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 (YH) 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 (YH)    | 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 (YH)    | 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 (YH), 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

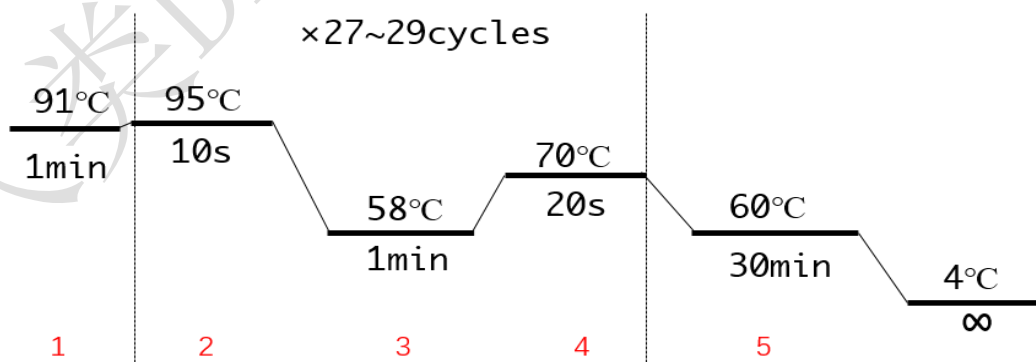


图 1 ABI veriti PCR 仪反应程序设置

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_6Dye | 1.2kV | 15-20S |
| ABI 3500XL型           | HID36_POP4                 | FGI_6Dye | 1.2kV | 24-30s |
| ABI 3100/3130/3130xL型 | HIDFragmentAnalysis36_POP4 | J6       | 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（ $\mu$ 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  $\mu$  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  $\mu$  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（炎黄）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           |
| SE33     | FAM    | 蓝      | 23. 2, 26. 2 |
| D10S1248 | HEX    | 绿      | 12, 15       |
| D5S818   | HEX    | 绿      | 11, 13       |
| D21S11   | HEX    | 绿      | 28, 30       |
| TPOX     | HEX    | 绿      | 8, 9         |
| D1S1656  | HEX    | 绿      | 14, 17       |
| D6S1043  | HEX    | 绿      | 12           |
| DXS6795  | YTAM   | 黄      | 11           |
| D19S433  | YTAM   | 黄      | 13, 14       |
| D22S1045 | YTAM   | 黄      | 16, 18       |
| D8S1179  | YTAM   | 黄      | 12, 13       |
| Penta E  | YTAM   | 黄      | 11           |
| DYS391   | YTAM   | 黄      | 10           |
| D2S441   | FSID   | 红      | 11, 12       |
| D12S391  | FSID   | 红      | 18, 24       |
| D2S1338  | FSID   | 红      | 23           |
| vWA      | FSID   | 红      | 17           |
| Penta D  | FSID   | 红      | 8, 12        |
| TH01     | FTAZ   | 紫      | 6, 9. 3      |
| D18S51   | FTAZ   | 紫      | 15, 18       |
| CSF1PO   | FTAZ   | 紫      | 10, 11       |
| FGA      | FTAZ   | 紫      | 24, 26       |