

## KASP PCR MixPlus

货号/规格: P4041/1 ml, P4042/25 ml

### 产品简介

KASP PCR MixPlus 是针对 KASP 技术开发的 2X PCR Mix 溶液, 内含有 FAM、HEX 标记探针, 只需加 SNP 对应的引物及 DNA 模板即可反应。KASP PCR MixPlus 的反应体系经特殊优化, 减少错配引物扩增产物的形成, 显著提高 PCR 扩增的特异性。

KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR, 竞争性等位基因特异性 PCR) 是一种用于基因分型的技术, 基于等位基因特异性 PCR。它使用一种独特的竞争性 PCR 机制, 能够检测特定定位点的单核苷酸多态性 (SNP) 和插入/缺失 (InDels), 具有通量高、成本低和可操作性强等优点, 在农作物性状遗传和改良研究等领域具有广泛的应用。

### 产品组成

Component	P4041	P4042
2X KASP PCR MixPlus*	1 ml	25ml

\* 包含热启动 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、缓冲液组分等。

### 保存条件

-20°C 保存, 避免反复冻融。

### 应用举例

#### 1. 准备工作

1.1 样本 DNA-对于要运行的每个基因分型检测, 包括最少 22 个 DNA 样本以进行群集分析。

1.2 对于每个基因分型检测都应包含无模板对照 (NTCs, 96 孔板上 2 个 NTCs, 384 孔板上 4 个 NTCs)。

1.3 解冻并涡旋所需数量的 KASP PCR MixPlus 和 Primers Mix (自备)。

#### 2. 配制反应体系

2.1 为将要进行的每个试验准备足够量的 KASP 基因分型混合液 (KASP Assay Mix+KASP PCR MixPlus), 包括 10% 的过量以允许移液操作。参考下表, 请于冰上配置反应体系:

Ordinal	Component	96 孔板	384 孔板
1	template DNA [1]	5 $\mu$ L	2.5 $\mu$ L
2	2X KASP PCR MixPlus	5 $\mu$ L	2.5 $\mu$ L
3	Primers Mix[2]	0.14 $\mu$ L	0.07 $\mu$ L
4	超纯水	n/a	n/a
总体积		10 $\mu$ L	5 $\mu$ L

[1] 建议 KASP 基因分型反应中最终 DNA 浓度的最低值为 2.5ng/ $\mu$ L (基于人类基因组大小)。

[2] 需要引物通用序列请联系我们 sales@gdsbio.com

2.2 将所需体积的制备好的 KASP 基因分型混合物分装到 DNA 板中的每个孔中。

2.3 用适合 PCR 的、光学透明的密封胶将制备好的反应板密封。

2.4 瞬时离心将液体收集至各孔底部。

#### 3. 设定反应程序进行 KASP 反应

将反应板放置在热循环器或 qPCR 仪器中。参考下表, 运行 KASP 反应:

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Hot-start Taq activation	95°C	1 min	1
Touchdown	95°C	15 sec	10
	56°C $\rightarrow$ 50°C, -0.6°C/循环	15 sec	
	72°C	20 sec	
Amplification	95°C	15 sec	26
	50°C	15 sec	
	72°C	20 sec	
(可选) Read (仅适用于 qPCR 仪)	30°C (低于 40°C 均可)	60 sec	1

**注意: 本产品需要更低的退火温度, 并采用三步法扩增, 否则扩增效率很差。**

#### 4. 分析结果

4.1 在进行板读取之前, 确保板已冷却至低于 40°C。如果板未在低于 40°C 下读取, 将无法分析基因分型数据。

4.2 使用具有 FRET 功能的板阅读器或 qPCR 仪器进行终点板读取。下表列出了 KASP 的

荧光团。

荧光团	激发波长 (nm)	发射波长 (nm)
FAM	485	520
HEX	535	556
ROX	575	610

4.3 如有需要，对反应板进行进一步的 PCR 循环 (recycle, 加循环)。KASP 加循环程序见下表：

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Denaturation	94°C	20 sec	3
Annealing/Elongation	57°C	60 sec	

4.4 将完成的反应板存放在黑暗的冰箱中 (最高 4°C, 最多 1 周)，直到分析数据。这将允许您在需要时执行额外的读取或加循环步骤，以确保您获得了最佳数据。

4.5 使用聚类图分析原始数据，以能够将基因型分配给 DNA 样品。

#### 注意事项

- 1、存储条件：该产品应存放在-20°C低温冷冻保存。建议分装保存及使用，避免多次冻融。
- 2、对于每个基因分型检测都应包含无模板对照 (NTCs, 96 孔板上 2 个 NTCs, 384 孔板上 4 个 NTCs)。

本品仅供科学研究使用。