



YoungGen

KASP PCR Mix

K100

产品概述

Product Overview

本产品基于竞争性等位基因特异性 PCR (Kompetitive Allele-Specific PCR, KASP) 技术, 专为 SNP 和 InDel 位点的高通量精准分型而设计。试剂采用独特的双组分隔离保存设计: 反应液 A 为 2×KASP PCR Mix, 含Taq DNA 聚合酶、dNTPs 和优化缓冲液; 反应液 B 预装 FAM/HEX 荧光探针并添加蓝色示踪染料, 既可避免探针与酶在长期储存中的相互干扰, 又能直观提示加样准确性, 防止实验误操作。使用时仅需加入 DNA 模板及自备的特异性引物即可上机检测, 操作简单方便。

该试剂盒保留了 KASP 技术通量高、成本低、灵活性强的核心优势, 适用于农作物育种标记筛选、遗传图谱构建及药物基因组学等大规模样本基因分型场景, 实现稳定、高效、低成本的基因分型鉴定。

产品组成

Product Composition

组 分	K100A 100 rxns (5 μL/rxn)	K100B 1000 rxns (5 μL/rxn)
KASP PCR Mix (反应液 A)	475 μL	475 μL × 10
KASP 探针 (反应液 B)	25 μL	250 μL

第 1 次使用前, 在每个含 475 μL 反应液 A 的管中加入 25 μL 反应液 B (A:B=475:25), 上下颠倒混匀, 配制成 500 μL 的 2 × KASP PCR MIX, 试剂呈现淡蓝色。

注意事项

Precautions

- 1: 本产品含有荧光基团标记探针, 因此需避光保存, 配制反应体系时应尽量避免强光照射;
- 2: 尽量避免反复冻融, 以免造成酶活下降。如每次使用量较少, 推荐小份分装使用;
- 3: DNA 模板可兼容粗提样本, 但建议将不同样本间浓度调整到相对一致;
- 4: 使用前请将各组分平衡至室温, 上下颠倒混匀后短暂离心即可使用;
- 5: 请勿剧烈摇晃, 避免产生气泡, 影响分型结果。

操作流程

Operation Process

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 (NTC, 96 孔板上 2 个 NTC, 384 孔板上 4 个 NTC)。
- 1.3 解冻并混匀所需数量的 2×KASP PCR Mix 和 SNP-specific primers Mix (自备)。

2: SNP-specific primers Mix 配制

SNP-specific primers	终浓度	体积
Specific primer 1-FAM (100 μM)	20 μM	20 μL
Specific primer 2-HEX (100 μM)	20 μM	20 μL
Common reverse primer (100 μM)	50 μM	50 μL
Nuclease-Free ddH ₂ O	/	10 μL

注：引物需根据 SNP、InDel 位点进行单独设计和合成。

3. 配制反应体系

组 分	2.0 μL 体积 ¹	5.0 μL 体积 ¹	10.0 μL 体积 ¹
2×KASP PCR Mix	1.0 μL	2.5 μL	5.0 μL
SNP-specific primers Mix	0.0126 μL	0.0315 μL	0.063 μL
DNA Template ²	X μL	X μL	X μL
ddH ₂ O	To 2.0 μL	To 5.0 μL	To 10.0 μL

- 1: 使用体系大小请根据仪器最低检测限度判断。
- 2: DNA 投入量建议：通常每个 PCR 反应中加入 5 - 50 ng (2 μL 体积)高质量 DNA 即可满足分型需求，具体投入量根据实验使用物种的基因组大小判断，遵循大基因组高投入，小基因组低投入原则投入适当 DNA。

4. 反应程序

步骤	时间	
95°C	15 min	预变性
95°C	30 sec	} 10 Cycles
63-57, -0.6°C/循环	30 sec	
95°C	30 sec	} 35 Cycles
57°C	30 sec	
30°C (低于40°C均可)	60 sec	信号采集 (仅适用于 qPCR 仪)

5. 分析结果

- 5.1 在进行板读取之前，确保板已冷却至低于 40°C。
- 5.2 使用具有荧光酶标仪或 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

- 5.3 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。
- 5.4 使用聚类图分析原始数据，以能够将基因型分配给 DNA 样品。

保存条件

Storage Conditions

-30 ~ -15°C避光保存，≤0°C运输。