

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:15-190901  
低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法荧光定量 PCR 试剂盒

Sex-determining Region on Y Chromosome (SRY)  
Probe qPCR Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区西二旗智学苑配套商业用房 B 座二层 212 室

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>Y 染色体上 95%是男性特异区域，里面含和男性有关的基因。SRY 基因 (Sex-determining Region on Y Chromosome, SRY) ，雄性的性别决定基因，指 Y 染色体上具体决定生物雄性性别的基因片段。人的 SRY 基因位于 Yp11.3, 只含有一个外显子，没有内含子，转录单位长约 1.1kb, 编码一个 204 氨基酸的蛋白质。本产品就是以探针法荧光定量 PCR 技术为基础开发的专门检测人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 的试剂盒，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 即开即用，用户只需要提供样品 DNA 模板。</li> <li>2. 引物和探针经过优化，灵敏性高。</li> <li>3. 提供阳性对照，便于区分假阴性样品。</li> <li>4. 特异性高，引物是根据人 Y 染色体性别决定区 (SRY) DNA 高度保守区设计，不会跟其他 DNA 发生交叉反应。</li> <li>5. 既可用于定性检测，又可用于定量检测。用于定量检测时线性范围至少为 5 个数量级。</li> <li>6. 本产品足够 50 次 20<math>\mu</math>L 体系的探针法荧光定量 PCR 反应。</li> <li>7. 本产品只能用于科研。</li> </ol>																							
<p><b>格及成分</b></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>五孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2<math>\times</math>Probe qPCR MagicMix</td> <td>190303</td> <td>500 <math>\mu</math>L (红盖)</td> </tr> <tr> <td>荧光 PCR 专用模板稀释液</td> <td>180701</td> <td>1 mL (绿盖)</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>100935</td> <td>1 mL (白盖)</td> </tr> <tr> <td>人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 引物-探针混合液</td> <td>15-190901yp</td> <td>150 <math>\mu</math>L (棕色管)</td> </tr> <tr> <td>人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 阳性对照(1<math>\times</math>10E7 拷贝/<math>\mu</math>L)</td> <td>190901pc</td> <td>50 <math>\mu</math>L (黄盖)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>15-190901sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成分	编号	五孔盒包装	2 $\times$ Probe qPCR MagicMix	190303	500 $\mu$ L (红盖)	荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL (绿盖)	超纯水	100935	1 mL (白盖)	人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 引物-探针混合液	15-190901yp	150 $\mu$ L (棕色管)	人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 阳性对照(1 $\times$ 10E7 拷贝/ $\mu$ L)	190901pc	50 $\mu$ L (黄盖)	使用手册	15-190901sc	1 份
成分	编号	五孔盒包装																						
2 $\times$ Probe qPCR MagicMix	190303	500 $\mu$ L (红盖)																						
荧光 PCR 专用模板稀释液	180701	1 mL (绿盖)																						
超纯水	100935	1 mL (白盖)																						
人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 引物-探针混合液	15-190901yp	150 $\mu$ L (棕色管)																						
人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 阳性对照(1 $\times$ 10E7 拷贝/ $\mu$ L)	190901pc	50 $\mu$ L (黄盖)																						
使用手册	15-190901sc	1 份																						
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输，-20<math>^{\circ}</math>C 保存，保存期限为 12 个月。</p>																							
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>样品 DNA。</p>																							

## 使用方法

**一、稀释标准曲线样品**（以  $10E1$ - $10E6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  这 6 个 10 倍稀释度为例）。由于标准品浓度非常高，因此下列稀释操作一定要在独立的区域进行，千万不能污染样品或本试剂盒的其他成分。为增加产品稳定性和避免扩散传染性病原，本产品不提供活体样品做阳性对照，只提供无传染性的 DNA 片段作为阳性对照。

1. 标记 6 个离心管，分别为 6, 5, 4, 3, 2, 1。
2. 用带芯枪头分别加入 45  $\mu\text{L}$  荧光 PCR 专用模板稀释液，最好用带芯枪头，下同。
3. 在 6 号管中加入 5  $\mu\text{L}$   $1 \times 10E7$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(试剂盒提供), 充分震荡 1 分钟, 得  $1 \times 10E6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
4. 换枪头, 在 5 号管中加入 5  $\mu\text{L}$   $1 \times 10E6$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得  $1 \times 10E5$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
5. 换枪头, 在 4 号管中加入 5  $\mu\text{L}$   $1 \times 10E5$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的阳性对照(上步稀释所得), 充分震荡 1 分钟, 得  $1 \times 10E4$  拷贝/ $\mu\text{L}$  的标准曲线样品。放冰上待用。
6. 重复上面的操作直到得到 6 个稀释度的标准曲线样品。放冰上待用。

## 二、样品 DNA 的制备

7. 如果有 N 个样品待提取, 最好设置 N+2 个提取, 多出的是 PC (样品制备阳性对照) 和 NC (样品制备阴性对照)。可以取阳性对照的 1000 倍稀释液 10 $\mu\text{L}$  再加上一定量的水, 使总体积与待提取样品的规定体积一致, 以此作为 PC。另外用水作为 NC。
8. 用自选方法纯化样品的 DNA, 本试剂盒跟市场上大多数 DNA 提取试剂盒兼容。

## 三、Probe qPCR 反应 (20 $\mu\text{L}$ 体系, 在样品制备室进行)

9. 如果做定量分析并且只做 1 次重复, 则标记 N+9 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品, 1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板), 6 个用于标准曲线。如果做定性分析, 并且只做 1 次重复, 则标记 N+4 个 PCR 管, 其中 N+2 个用于上步得到的 N+2 个样品, 1 个用于 PCR 阴性对照 (用水做模板), 1 个用于 PCR 阳性对照 (用第 4 号管的阳性对照稀释液做模板)。下面只以定量分析为例描述操作步骤。
10. 在标记管中按下表加入各成分 (本表只列出一重复。样品管和阴性对照设置完毕后才设置阳性对照, 并且阳性对照样品要等所有管子盖上盖子储存好

后最后加)：

成分/每管	样品管 N+2 个	PCR 阴性 对照管	标准曲线 样品管 (1-6 管)
2×Probe qPCR MagicMix	10 μL	10 μL	10 μL
人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 探针法 qPCR 引物-探针混合液	3 μL	3 μL	3 μL
N+2 个待测 DNA 模板	7 μL	-	-
超纯水	-	7 μL	-
第 6 步所得标准曲线样品稀释液 (1-6 号)	-	-	7 μL (1 号样到 1 号管, 2 号样到 2 号管…)

11. 盖上盖子后上机, 按下面参数进行 PCR:

过程	温度	时间
预变性	95℃	10 min
PCR 反应 (45 个循环)	95℃	15 sec
	60℃	60 sec (采集 FAM 通道的荧 光信号)

#### 四、数据处理

12. 如果把本试剂盒用于定量检测, 则以阳性对照浓度的 log 值为横轴, 以 Ct 值为纵轴, 绘制标准曲线。再以待测样品的 Ct 值从标准曲线上推算出样品 DNA 浓度的 log 值, 再推算出其浓度。
13. 如果把本试剂盒用于定性检测, 只判断阳性或阴性, 则阴性对照 Ct 必须大于或等于 40。阳性对照必须有荧光对数增长, 有典型扩增曲线, Ct 值应该小于或等于 37。对待测样品, 如果其 Ct 大于或等于 40 则为阴性, 如果小于或等于 37 则为阳性。如果在 37-40 之间, 则重复一次。重复实验的 Ct 值如果大于或等于 40 则为阴性, 如果小于 40, 则为阳性。

#### 关联产品

人 Y 染色体性别决定区 (SRY) 染料法荧光定量 PCR 试剂盒