

# 分子标记检测报告

客户单位：\_\_\_\_\_

服务单位：\_\_\_\_\_武汉市景肽生物科技有限公司\_\_\_\_\_

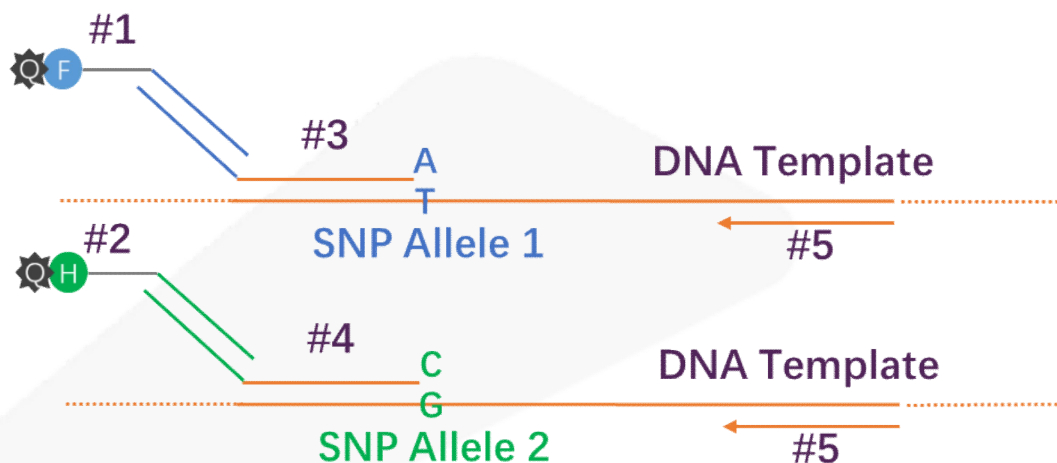
# 目 录

一、 PARMS SNP 分型原理.....	2
二、 PARMS SNP 分型技术路线.....	3
三、 服务要求.....	4
四、 分型结果.....	5

## 一、PARMS SNP 分型原理

PARMS (Penta-primer amplification refractory mutation system, 五引物扩增受阻突变体系) 是一种结合了一对通用荧光引物、一对 SNP 等位基因特异引物以及一条反向共用引物的 SNP PCR 分析技术。可快速简单地进行 SNP 等位基因基因型分型。

带有 2 个不同的通用接头引物序列的 Allele 1 和 Allele 2 特异扩增引物(#3, #4)在 DNA 复性后与对应的 SNP DNA 模板结合, PARMS PCR 酶和 Buffer 系统能保证严格的等位基因特异扩增, 配合 Locus 特异扩增引物 (#5), 经过头 2 轮 PCR 后, 形成了带有通用接头序列的 PCR 扩增产物。此时带有报告荧光以及荧光猝灭基团的通用探针 (无扩增时因 FRET 效应而无荧光信号), 可以以带有通用接头序列的 PCR 扩增产物作为模板进行 PCR 扩增, 一旦扩增成功, 荧光探针上的荧光猝灭基团与报告基团解离, FRET 效应消失, 此时进行荧光扫描, 即可获得对应的荧光信号, 因而可以得知对应的等位基因是否存在。



#1, Allele 1 FAM 荧光通用引物; #2, Allele 2 HEX 荧光通用引物;

#3, Allele 1 特异扩增引物; #4, Allele 2 特异扩增引物 ;

#5, Locus 特异扩增引物

图 1: PARMS SNP 分型原理

## 二、PARMS SNP 分型技术路线

### 1) DNA 提取

PARMS 对 DNA 质量和浓度均一性要求一般，对 RNA 和蛋白质污染并不敏感，常规的 CTAB 法提取的 DNA 即可满足需求，10 ng 以上能较好的工作。用琼脂糖凝胶对群体 DNA 进行抽样质检，有明显主带为合格 DNA 样本。

### 2) PCR 扩增

根据 PARMS master mix 说明书配制 PCR 反应体系。

PARMS PCR 循环数需求会因引物和 DNA 浓度而异。一般来说，采用 35 个循环即可获得好的分型效果。某些时候如引物 GC 含量较低，最佳循环数会偏高。

### 3) 荧光扫描

PARMS 采用 FAM 和 HEX 作为报告荧光，以及 ROX 作为参比荧光，可在具有这 3 种荧光通道的酶标仪以及定量 PCR 仪中进行快速分型。本次采用 Tecan F200，扫描 FAM、HEX 和 ROX 信号。

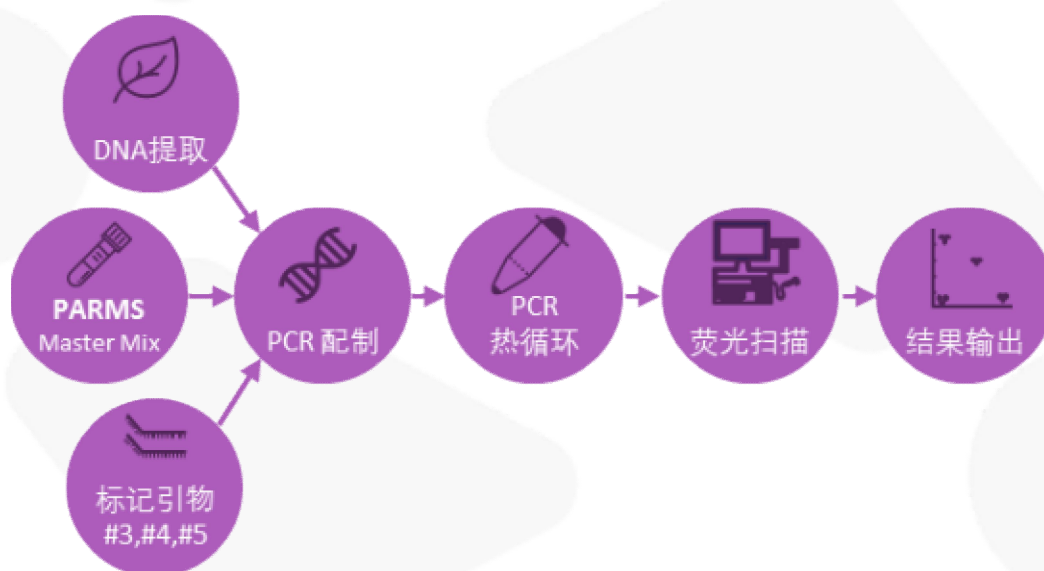


图 2: PARMS SNP 技术流程

## 三、服务要求

基于 PARMS（景肽生物）技术，依据客户需求，使用稻瘟病功能标记及部分品质基因功能标记对客户提供的稻群体进行 SNP 等位基因型分型。

## 四、分型结果 （代表性分型图示例）



## 武汉市景肽生物科技有限公司

📍 武汉市东湖开发区高新大道 888 号 B 区 20 栋

☎ 027-65317882

🌐 [www.gentides.com](http://www.gentides.com)

✉ [sales@gentides.com](mailto:sales@gentides.com)