

## 人 GSTP1 基因 313A>G 突变探针法 qPCR 检测试剂盒

CAT#:BN65461

低温运输, -20℃保存

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>大剂量化疗联合自体造血干细胞移植是晚期淋巴瘤的巩固治疗手段,也是复发难治淋巴瘤的挽救治疗方法。含有环磷酰胺的预处理方案是造血干细胞移植前常用的预处理化疗方案。环磷酰胺是一种无活性的前药,在体内首先经细胞色素 P450 酶 (CYP) 系代谢活化,生成 4-羟基环磷酰胺 (4-OHCPA) 而发挥细胞毒作用。4-OHCPA 可进一步转化为磷酰胺氮芥和丙烯醛,4-OHCPA 及磷酰胺氮芥在谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 的催化下,与谷胱甘肽形成水溶性复合物从尿液或胆汁中排出体外。已有研究表明 GSTP1 313 位点由 A 突变为 G 可影响 GSTs 的表达及活性,使环磷酰胺及其代谢产物的排泄减少,在体内蓄积增加,导致患者疗效及不良反应之间出现差异。因此检测该位点的突变具有重要的意义。本产品就是专门检测该位点的 PCR 试剂盒,它具有下列特点:即开即用,用户只需要提供样品 DNA 模板。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 引物和探针经过优化,分析灵敏度高,可以达到 1000 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>。</li> <li>2. 能检测出 5%的点突变。</li> <li>3. 提供两种阳性对照,便于区分假阴性样品。</li> <li>4. 特异性高,引物是根据人 GSTP1 基因位点设计,不会跟其他位点的 DNA 发生交叉反应。</li> <li>5. 本产品只能定性,不能定量。</li> <li>6. 本产品足够 50 次 20 <math>\mu\text{L}</math> 体系的点突变探针法荧光定量 PCR 反应。</li> <li>7. 本产品只能用于科研。</li> </ol>																							
<p><b>规格及成分</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>点突变 Probe qPCR MagicMix</td> <td>60001</td> <td>0.5 mL (本色盖)</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>60002</td> <td>1 mL (蓝盖管)</td> </tr> <tr> <td>位点检测引物-探针混合液</td> <td>65461-3</td> <td>150 <math>\mu\text{L}</math> (棕色管)</td> </tr> <tr> <td>位点 A 阳性对照 (1<math>\times</math>10E4 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>)</td> <td>65461-4</td> <td>250 <math>\mu\text{L}</math> (红色管)</td> </tr> <tr> <td>位点 G 阳性对照 (1<math>\times</math>10E4 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>)</td> <td>65461-5</td> <td>250 <math>\mu\text{L}</math> (黄盖管)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td></td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成分	编号	五孔盒包装	2 $\times$ 点突变 Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL (本色盖)	超纯水	60002	1 mL (蓝盖管)	位点检测引物-探针混合液	65461-3	150 $\mu\text{L}$ (棕色管)	位点 A 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	65461-4	250 $\mu\text{L}$ (红色管)	位点 G 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	65461-5	250 $\mu\text{L}$ (黄盖管)	使用手册		1 份		
成分	编号	五孔盒包装																						
2 $\times$ 点突变 Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL (本色盖)																						
超纯水	60002	1 mL (蓝盖管)																						
位点检测引物-探针混合液	65461-3	150 $\mu\text{L}$ (棕色管)																						
位点 A 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	65461-4	250 $\mu\text{L}$ (红色管)																						
位点 G 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ )	65461-5	250 $\mu\text{L}$ (黄盖管)																						
使用手册		1 份																						
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输, -20℃保存, 保存期限为 12 个月。</p>																							

本产品仅用于科研

**自备试剂** 样品 DNA。

**使用方法** **一、样品 DNA 的制备**

1. 如果有 N 个样品，则进行 N 次纯化，得到的 DNA 最后溶解在 TE 中，并需要用 NanoDrop 进行定量。最后的浓度不能低于 0.2ug/μL。
2. 本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 提取试剂盒兼容。

**三、点突变 Probe qPCR 反应 (20 μL 体系，在样品制备室进行)**

3. 如果只做 1 次重复，则标记 N+3 个 PCR 管，其中 N 个用于上步得到的 N 样品，1 个用于 PCR 阴性对照（用水做模板，NC），3 个用于阳性对照（分别对应两种纯合子基因型和一种杂合子基因型）。
4. 在标记管中按下表加入各成分（本表只列出一次重复。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	样品管 N 个	NC	AA	AG	GG
2×点突变 Probe qPCR MagicMix	各 10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL
位点检测引物-探针混合液	各 4 μL	4 μL	4 μL	4 μL	4 μL
N 个 DNA 样本	各 3 μL				
超纯水	各 3 μL	6 μL	3 μL		3 μL
位点 A 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)			3 μL	3 μL	不加
位点 G 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)				3 μL	3 μL

5. 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°C	90 sec
PCR 反应 (45 个循环)	95°C	15 sec
	60°C	60 sec (采集 FAM 和 HEX 通道的荧光信号, 淬灭基团均为 TAMRA)

**五、数据处理**

6. 阴性对照 (NC) Ct 必须等于或者大于 40 或者没有 Ct。AA 型（对应 FAM 信号）、GG 型（对应 HEX 信号）和 AG 型（对应 FAM 和 HEX 信号）三种阳性对照所对应的荧光通道的数据必须有对数增长，有典型扩增曲线，Ct 值应该小于 40。如果对照没得到预期的结果，则实验无效，不需要分析样品的数据。需要跟厂家联系。

	<p>7. 如果对照有效, 则分析样品的数据。对待测样品, 如果其 FAM 信号 Ct 小于 40, 没有 HEX 信号, 则为 AA 型。如果其 HEX 信号 Ct 小于 40, 没有 FAM 信号, 则为 GG 型。如果其 FAM 和 HEX 信号 Ct 均小于 40, 则为 AG 型。如果 FAM 和 HEX 均无信号, 则可能样品中有 PCR 抑制物, 或 DNA 模板量不够, 可以稀释模板以去除 PCR 抑制物或者增加模板 DNA 用量再测。</p>
关联产品	人疱疹病毒 7 型荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒