

# 人CYP2D6\*10基因c.100C>T(P34S)点突变探针法qPCR检测试剂盒

货号：BN65371

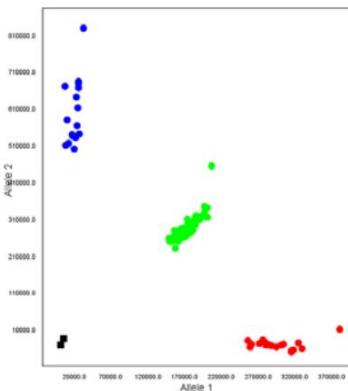
低温运输，-20℃保存

<b>产品及特点</b>	<p>细胞色素P4502D6 (CYP2D6) 是CYP450酶家族的重要成员，是一种多态酶，代谢约30%的临床药物，其在亚洲人群的分布率高达56%。CYP2D6常表现出显著的遗传多态性，可能导致某些药物的不良反应和治疗失败。因此检测人CYP2D6*10基因c.100C&gt;T突变具有重要的研究意义。为此本公司开发了专门检测CYP2D6*10基因c.100C&gt;T突变的探针法qPCR检测试剂盒，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，分析灵敏度高，可以达到1000 拷贝/μL。</li><li>3. 分辨率高，能检测出5 %的点突变。</li><li>4. 一管式检测，突变型探针用FAM标记，野生型探针用Cy5标记。</li><li>5. 同时提供野生型和突变型两种阳性对照，便于排除假阴性样品。</li><li>6. 特异性高，引物和探针是根据人BRAF基因1799T&gt;A突变设计，不会跟其他突变发生交叉反应。</li><li>7. 本产品只能定性，不能定量。</li><li>8. 本产品足够50次20 μL体系的点突变探针法荧光定量PCR反应。</li><li>9. 本产品只能用于科研。</li></ol>																								
<b>规格及成分</b>	<p>本产品采用5孔盒包装</p> <table border="1"><thead><tr><th>成分</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装</th></tr></thead><tbody><tr><td>2 × SNP Probe qPCR MasterMix</td><td>60001</td><td>0.5 mL</td><td>0.5 mL</td></tr><tr><td>超纯水</td><td>60002</td><td>1 mL</td><td>1.5 mL</td></tr><tr><td>人BRAF基因 rs1065852位点 检测引物-探针干粉</td><td>65371-3</td><td>50 次</td><td>0.5 mL</td></tr><tr><td>人BRAF基因15号外显子 野生型阳性对照(1E4拷贝/μL)</td><td>65371-4</td><td>250 μL</td><td>1.5 mL</td></tr><tr><td>人BRAF基因rs1065852位点突变型阳性对照(1E4拷贝/μL)</td><td>65371-5</td><td>250 μL</td><td>0.5 mL</td></tr></tbody></table>	成分	编号	规格	包装	2 × SNP Probe qPCR MasterMix	60001	0.5 mL	0.5 mL	超纯水	60002	1 mL	1.5 mL	人BRAF基因 rs1065852位点 检测引物-探针干粉	65371-3	50 次	0.5 mL	人BRAF基因15号外显子 野生型阳性对照(1E4拷贝/μL)	65371-4	250 μL	1.5 mL	人BRAF基因rs1065852位点突变型阳性对照(1E4拷贝/μL)	65371-5	250 μL	0.5 mL
成分	编号	规格	包装																						
2 × SNP Probe qPCR MasterMix	60001	0.5 mL	0.5 mL																						
超纯水	60002	1 mL	1.5 mL																						
人BRAF基因 rs1065852位点 检测引物-探针干粉	65371-3	50 次	0.5 mL																						
人BRAF基因15号外显子 野生型阳性对照(1E4拷贝/μL)	65371-4	250 μL	1.5 mL																						
人BRAF基因rs1065852位点突变型阳性对照(1E4拷贝/μL)	65371-5	250 μL	0.5 mL																						

本产品仅用于科研

	使用手册		1份	1份																																										
注意：使用前需要将引物探针干粉管短暂离心后加入220 μL的自备超纯水，震荡混匀后再取用，一次没用完剩下的需要放-20℃保存。																																														
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为12个月。																																													
自备物品	样品DNA。																																													
使用方法	<p><b>一、样品DNA的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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0.2 μg/μL。</li> <li>本试剂盒跟市场上大多数样品DNA提取试剂盒兼容。</li> </ol> <p><b>三、点突变Probe qPCR反应 (20 μL体系，在样品制备室进行)</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>如果只做1次重复，则标记N+4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（PC）。</li> <li>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后最后加）：</li> </ol>																																													
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>样品管 N个</th> <th>扩增 NC</th> <th>野生型 PC</th> <th>杂合型 PC</th> <th>突变型 PC</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×SNP Probe qPCR MasterMix</td> <td>各10 μL</td> <td>10 μL</td> <td>10 μL</td> <td>10 μL</td> <td>10 μL</td> </tr> <tr> <td>rs1065852位点 检测引物-探针混合液</td> <td>各4 μL</td> <td>4 μL</td> <td>4 μL</td> <td>4 μL</td> <td>4 μL</td> </tr> <tr> <td>N个DNA样本</td> <td>各3 μL</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>各3 μL</td> <td>6 μL</td> <td>3 μL</td> <td></td> <td>3 μL</td> </tr> <tr> <td>人BRAF基因15号外显子 野生型阳性对照(1E4拷贝/μL)</td> <td></td> <td></td> <td>3 μL</td> <td>3 μL</td> <td></td> </tr> <tr> <td>人BRAF基因 rs1065852位点突变型 阳性对照(1E4拷贝/μL)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>3 μL</td> <td>3 μL</td> </tr> </tbody> </table>				成分	样品管 N个	扩增 NC	野生型 PC	杂合型 PC	突变型 PC	2×SNP Probe qPCR MasterMix	各10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	rs1065852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	人BRAF基因15号外显子 野生型阳性对照(1E4拷贝/μL)			3 μL	3 μL		人BRAF基因 rs1065852位点突变型 阳性对照(1E4拷贝/μL)				3 μL	3 μL
成分	样品管 N个	扩增 NC	野生型 PC	杂合型 PC	突变型 PC																																									
2×SNP Probe qPCR MasterMix	各10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL																																									
rs1065852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																																									
人BRAF基因15号外显子 野生型阳性对照(1E4拷贝/μL)			3 μL	3 μL																																										
人BRAF基因 rs1065852位点突变型 阳性对照(1E4拷贝/μL)				3 μL	3 μL																																									
	5. 盖上盖子后上机，按下面参数进行PCR：																																													
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>过程</th> <th>温度</th> <th>时间</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>预变性</td> <td>95°C</td> <td>90 sec</td> </tr> <tr> <td>PCR反应 (45个循环)</td> <td>95°C 60°C</td> <td>15 sec 60 sec (采集FAM和Cy5通道的荧光 信号，淬灭基团均为TAMRA)</td> </tr> </tbody> </table>				过程	温度	时间	预变性	95°C	90 sec	PCR反应 (45个循环)	95°C 60°C	15 sec 60 sec (采集FAM和Cy5通道的荧光 信号，淬灭基团均为TAMRA)																																	
过程	温度	时间																																												
预变性	95°C	90 sec																																												
PCR反应 (45个循环)	95°C 60°C	15 sec 60 sec (采集FAM和Cy5通道的荧光 信号，淬灭基团均为TAMRA)																																												
	<p><b>五、数据处理</b></p>																																													

6. 实验有效性的判断：首先分析扩增NC是否有FAM或/和Cy5信号，如果有则表示实验污染，本次实验无效，无需分析所有实验数据，需要寻找原因。如果无则表示实验没有污染，再分析三个PC。如果突变型PC没有FAM扩增信号（有标准的倒S扩增曲线，下同），或野生型PC没有Cy5扩增信号，或杂合型PC没有FAM和Cy5扩增信号，则表示实验无效，不需要分析样本的数据，需要分析原因。如果三个PC正常（突变型PC有FAM扩增信号，野生型PC有Cy5扩增信号，杂合型PC有FAM和Cy5扩增信号），则实验有效，可以分析样本的数据。
7. 如果荧光定量PCR仪有基因分型的自动分析模块，则进入该模块，获得每个样本的FAM值/Cy5值的荧光比值，并根据荧光比值描出散点图。荧光比值位于散点图的X轴方向的样本可以判为突变型，荧光比值将位于Y轴方向的样本可以判为野生型，荧光比值位于X轴和Y轴中间的可以判为杂合子。扩增NC的荧光比值将位于原点附近。散点图的示例如下：



8. 如果荧光定量PCR仪没有基因分型的自动分析模块，则需要手动分析。首先根据Ct值判断每个样本在FAM和Cy5两个通道的扩增情况。如果FAM通道的Ct低于35，则算FAM信号有扩增。如果Ct大于35或没有Ct，则算FAM通道无扩增。Cy5通道也如此操作。然后根据扩增结果按下表判断每个样本的基因型，得到无效数据的样本需要重复：

FAM通道	Cy5通道	基因型判断
有扩增	无扩增	突变型
有扩增	有扩增	杂合子
无扩增	有扩增	野生型
无扩增	无扩增	阴性PC或无效数据