

## 人 TP53 基因 215C>G 突变探针法 qPCR 检测试剂盒

**CAT#: BN65467**

**低温运输, -20℃保存**

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>人 TP32 基因 rs1042522 位点, 即 NM_000546.5 (TP53):c. 215C&gt;G (p. Pro72Arg) 位点是结直肠癌中研究得最多的 p53 功能性 SNPs 之一, 其可导致 72 密码子的精氨酸变为脯氨酸。为此本公司开发了简单快捷的检测该位点得点突变探针法 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, 分析灵敏性高, 可以达到 1000 拷贝/<math>\mu</math>L。</li> <li>3. 能检测出 5% 的点突变。</li> <li>4. 提供两种阳性对照, 便于区分假阴性样品。</li> <li>5. 特异性高, 引物是根据人 TP32 基因 rs1042522 位点设计, 不会跟其他位点的 DNA 发生交叉反应。</li> <li>6. 本产品只能定性, 不能定量。</li> <li>7. 本产品足够 50 次 20<math>\mu</math>L 体系的点突变探针法荧光定量 PCR 反应。</li> <li>8. 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>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</td> </tr> <tr> <td>10<math>\times</math>Probe qRT-PCR 酶混合液</td> <td>60002</td> <td>0.5 mL</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>60003</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>rs1042522 位点检测引物- 探针混合液</td> <td>65467-4</td> <td>150<math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>rs1042522 位点 GG 阳性对照 (1<math>\times</math>10E4 拷贝/<math>\mu</math>L)</td> <td>65467-5</td> <td>50<math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td></td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成分	编号	包装	2 $\times$ 点突变 Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL	10 $\times$ Probe qRT-PCR 酶混合液	60002	0.5 mL	超纯水	60003	1 mL	rs1042522 位点检测引物- 探针混合液	65467-4	150 $\mu$ L	rs1042522 位点 GG 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)	65467-5	50 $\mu$ L	使用手册		1 份		
成分	编号	包装																							
2 $\times$ 点突变 Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL																							
10 $\times$ Probe qRT-PCR 酶混合液	60002	0.5 mL																							
超纯水	60003	1 mL																							
rs1042522 位点检测引物- 探针混合液	65467-4	150 $\mu$ L																							
rs1042522 位点 GG 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)	65467-5	50 $\mu$ L																							
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>																								
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>样品 DNA。</p>																								

本产品仅用于科研

**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/ $\mu$  L。
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 $\mu$  L 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	CC	GC	GG
2 $\times$ 点突变 Probe qPCR MagicMix	各 10 $\mu$ L	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L
rs1042522 位点检测引物- 探针混合液	各 4 $\mu$ L	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L
N 个 DNA 样本	各 3 $\mu$ L				
超纯水	各 3 $\mu$ L	6 $\mu$ L	3 $\mu$ L		3 $\mu$ L
rs1042522 位点 CC 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)			3 $\mu$ L	3 $\mu$ L	不加
rs1042522 位点 GG 阳性对照 (1 $\times$ 10E4 拷贝/ $\mu$ L)				3 $\mu$ L	3 $\mu$ L

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 $^{\circ}$ C	90 sec
PCR 反应 (45 个循环)	95 $^{\circ}$ C	15 sec
	60 $^{\circ}$ 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。CC 型 (FAM 信号)、GG 型 (HEX 信号) 和 GC 型 (HEX 信号) 三种阳性对照其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。
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 CC 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 GC 型。如果 FAM 和 HEX 均无信号，则可能样品中有 PCR 抑制物。

**关联产品**

人疱疹病毒 7 型荧光及可视化 LAMP 检测试剂盒