

人Kras基因c.34G>T(p.G12C)点突变 探针法qPCR检测试剂盒

货号: BN65430

低温运输, -20℃保存

产品及特点

KRAS基因的全名叫Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog, (Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物), 它编码一种小GTP酶, 该酶属于RAS超蛋白家族。KRAS基因位于1号染色体上。大约有30%的癌症患者都存在KRAS突变, 其中包括90%的胰腺癌, 50%的结肠癌和25%的肺癌。在非小细胞肺癌中, KRAS基因突变占20~30%, 多存在于肺腺癌中, 肺鳞癌中比较罕见。在KRAS突变类型中, c.34G>T(p.G12C)突变最常见, 约占所有KRAS突变的44%, 最常见的癌种是非小细胞肺癌, 因此快速检测此突变具有重要的意义。为此本公司开发了简单快捷的检测该位点的点突变探针法qPCR检测试剂盒, 它具有下列特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供样品DNA模板。
2. 引物和探针经过优化, 分析灵敏性高, 可以达到1000拷贝/μL。
3. 能检测出5%的点突变。
4. 提供两种阳性对照, 便于区分假阴性样品。
5. 特异性高, 引物是根据人Kras基因rs121913530位点设计, 不会跟其他位点的DNA发生交叉反应。
6. 本产品只能定性, 不能定量。
7. 本产品足够50次20μL体系的点突变探针法荧光定量PCR反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用5孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×点突变Probe qPCR MagicMix	60001	0.5 mL	0.5mL本色盖
超纯水	60002	1 mL	1.5mL蓝盖管
rs121913530位点检测引物-探针混合液干粉	65430-3	50次	0.5mL白盖管
rs121913530位点GG阳性对照(1×10E4拷贝/μL)	65430-4	250 μL	1.5mL棕色管

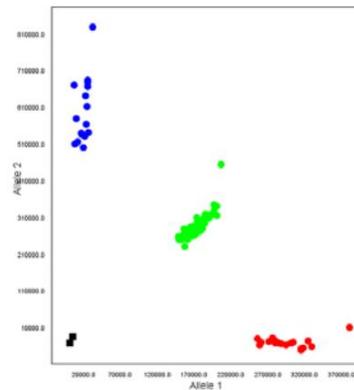
本产品仅用于科研

	rs121913530位点TT阳性对照(1×10E4拷贝/μL)	65430-5	250 μL	0.5mL黄盖管																																																			
	使用手册	65430-6	1份	无																																																			
运输及保存	低温运输，-20℃保存，保存期限为12个月。																																																						
自备试剂	样品DNA。																																																						
使用方法	<p>一、样品DNA的制备</p> <p>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。</p> <p>2. 本试剂盒跟市场上大多数样品DNA提取试剂盒兼容。</p> <p>三、点突变Probe qPCR反应 (20μL体系，在样品制备室进行)</p> <p>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）。</p> <p>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）：</p> <table border="1" data-bbox="450 1196 1463 1724"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>样品管 N个</th> <th>NC</th> <th>GG</th> <th>GT</th> <th>TT</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×点突变Probe qPCR MagicMix</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>rs121913530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>rs121913530位点GG阳性对照(1×10E4拷贝/μL)</td> <td></td> <td></td> <td>3 μL</td> <td>3 μL</td> <td>不加</td> </tr> <tr> <td>rs121913530位点TT阳性对照(1×10E4拷贝/μL)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>3 μL</td> <td>3 μL</td> </tr> </tbody> </table> <p>5. 盖上盖子后上机，按下面参数进行PCR:</p> <table border="1" data-bbox="507 1787 1406 1975"> <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℃</td> <td>90 sec</td> </tr> <tr> <td>PCR反应</td> <td>95℃</td> <td>15 sec</td> </tr> </tbody> </table>				成分	样品管 N个	NC	GG	GT	TT	2×点突变Probe qPCR MagicMix	各10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	rs121913530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	rs121913530位点GG阳性对照(1×10E4拷贝/μL)			3 μL	3 μL	不加	rs121913530位点TT阳性对照(1×10E4拷贝/μL)				3 μL	3 μL	过程	温度	时间	预变性	95℃	90 sec	PCR反应	95℃	15 sec
成分	样品管 N个	NC	GG	GT	TT																																																		
2×点突变Probe qPCR MagicMix	各10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL																																																		
rs121913530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																																																		
rs121913530位点GG阳性对照(1×10E4拷贝/μL)			3 μL	3 μL	不加																																																		
rs121913530位点TT阳性对照(1×10E4拷贝/μL)				3 μL	3 μL																																																		
过程	温度	时间																																																					
预变性	95℃	90 sec																																																					
PCR反应	95℃	15 sec																																																					

(45个循环)	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. 一般的荧光定量PCR仪在基因分型的模式下,都可以自动根据两个通道获得的荧光值,计算每个样品的比值(HEX值/FAM值),并描出散点图。突变基因型的比值点将位于散点图的X轴方向,正常基因型的比值将位于Y轴方向,杂合子基因型的比值将位于中间,阴性对照的比值将位于原点附近。如果阴性对照有任何信号,则表示污染,本次实验无效,需要寻找原因。散点图的示例如下:



也可以手动整理下表进行基因型判断。首先设置阈值,FAM的阈值根据GG阳性对照的FAM荧光值设置,HEX的阈值根据TT阳性对照的HEX荧光值设置。如果阴性对照有任何信号,则表示污染,本次实验无效,需要寻找原因。如果实验有效,则分析样品。如果样品Ct值低于35,则算有扩增。高于35,则算无扩增。

阳性对照	FAM通道	HEX通道	基因型
GG阳性对照	无扩增	有扩增	纯合突变
GT阳性对照	有扩增	有扩增	杂合突变
TT阳性对照	有扩增	无扩增	正常
阴性对照	无扩增	无扩增	-