

## 人 IL-6 基因 572C>G 点突变探针法 qPCR 检测试剂盒

仅  
供  
科  
研  
使  
用

### 产品及特点

人 IL-6 基因 (interleukin-6, 白细胞介素 6) 是与炎症相关的细胞因子。它通过调节免疫和炎症

|  | <p>反应，在宿主防御中发挥着重要作用。糖尿病患者存在 IL-6 基因 572C&gt;G 多态性,不同基因型 IL-6 水平不同。IL-6 基因 572C&gt;G 点突变的患者，IL-6 水平明显增高，且差异具有显著性。因此研究人 IL-6 基因 572C&gt;G 点突变具有重要的研究意义，为此本公司开发了专门检测人 IL-6 基因 572C&gt;G 点突变的探针法 qPCR 检测试剂盒，<b>它具有下列特点：</b></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\text{L}</math>。</li> <li>3. 分辨率高，能检测出 5% 的点突变。</li> <li>4. 一管式检测，野生型探针用 FAM 标记，突变型探针用 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 IL-6 基因 572C&gt;G 位点设计，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 <math>\mu\text{L}</math> 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>   | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr style="background-color: #a6c9e9;"> <th style="text-align: center; padding: 5px;">成分</th> <th style="text-align: center; padding: 5px;">规格</th> <th style="text-align: center; padding: 5px;">包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">2×点突变 Probe qPCR MasterMix</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">0.5mL</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">0.5mL 本色管</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">超纯水</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">1mL</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">1.5mL 蓝盖管</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">人 IL-6 基因 rs1800796 位点检测引物-探针混合液干粉</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">50 次</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">0.5 mL 白色管</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">人 IL-6 基因野生型阳性对照(1E4 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>)</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">250 <math>\mu\text{L}</math></td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">1.5mL 棕色管</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">人 IL-6 基因 rs1800795 位点突变型阳性对照<br/>(1E4 拷贝/<math>\mu\text{L}</math>)</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">250 <math>\mu\text{L}</math></td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">0.5mL 黄盖管</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">使用手册</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">1 份</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">无</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center; padding: 5px;">本产品采用 5 孔盒包装</td></tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center; padding: 5px;"><b>注 意：</b> 使用前需要在引物探针干粉管中加入 220 <math>\mu\text{L}</math> 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°C 保存。</td></tr> </tbody> </table> | 成分         | 规格 | 包装 | 2×点突变 Probe qPCR MasterMix | 0.5mL | 0.5mL 本色管 | 超纯水 | 1mL | 1.5mL 蓝盖管 | 人 IL-6 基因 rs1800796 位点检测引物-探针混合液干粉 | 50 次 | 0.5 mL 白色管 | 人 IL-6 基因野生型阳性对照(1E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ ) | 250 $\mu\text{L}$ | 1.5mL 棕色管 | 人 IL-6 基因 rs1800795 位点突变型阳性对照<br>(1E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ ) | 250 $\mu\text{L}$ | 0.5mL 黄盖管 | 使用手册 | 1 份 | 无 | 本产品采用 5 孔盒包装 |  |  | <b>注 意：</b> 使用前需要在引物探针干粉管中加入 220 $\mu\text{L}$ 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°C 保存。 |  |  |
| 成分   | 规格  | 包装         |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 2×点突变 Probe qPCR MasterMix   | 0.5mL   | 0.5mL 本色管  |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 超纯水  | 1mL   | 1.5mL 蓝盖管  |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 人 IL-6 基因 rs1800796 位点检测引物-探针混合液干粉   | 50 次  | 0.5 mL 白色管 |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 人 IL-6 基因野生型阳性对照(1E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ )   | 250 $\mu\text{L}$   | 1.5mL 棕色管  |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 人 IL-6 基因 rs1800795 位点突变型阳性对照<br>(1E4 拷贝/ $\mu\text{L}$ )                          | 250 $\mu\text{L}$   | 0.5mL 黄盖管  |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 使用手册   | 1 份   | 无          |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| 本产品采用 5 孔盒包装   |   |            |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| <b>注 意：</b> 使用前需要在引物探针干粉管中加入 220 $\mu\text{L}$ 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°C 保存。 |   |            |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |
| <b>使用方法</b>  | <p><b>一、样品 DNA 的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 如果有 N 个样品，则进行 N 次纯化，得到的 DNA 溶解在 TE 中，并需要用 NanoDrop 进行定量。浓度不能低于 0.2 <math>\mu\text{g}/\mu\text{L}</math>。</li> <li>2. 本试剂盒跟市场上大多数样品 DNA 提取试剂盒兼容。</li> </ol>   |            |    |    |                            |       |           |     |     |           |                                    |      |            |  |                   |           |   |                   |           |      |     |   |              |  |  |  |  |  |

**二、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 (PC) 。
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后加) :

| 成分   | 样品管<br>N 个 | 扩增<br>NC | 野生型<br>PC | 杂合型<br>PC | 突变型<br>PC |
|--|------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 2×点突变 Probe qPCR MasterMix                             | 各 10μL     | 10μL     | 10μL      | 10μL      | 10μL      |
| 人 IL-6 (白细胞介素 6) 基因 rs1800796 位点检测引物-探针混合液             | 各 4μL      | 4μL      | 4μL       | 4μL       | 4μL       |
| N 个 DNA 样本   | 各 3μL      |          |           |           |           |
| 超纯水  | 各 3μL      | 6μL      | 3μL       |           | 3μL       |
| 人 IL-6 (白细胞介素 6) 基因 阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL)                |            |          | 3μL       | 3μL       | 不加        |
| 人 IL-6 (白细胞介素 6) 基因 rs1800796 位点突变型阳性对照 (1×10E4 拷贝/μL) |            |          |           | 3μL       | 3μL       |

5. 盖上盖子后上机, 按下面参数进行 PCR:

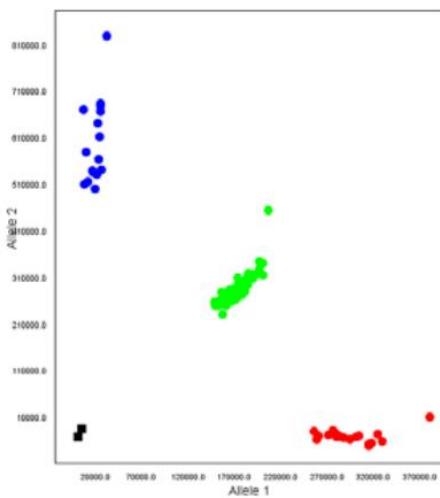
| 过程                 | 温度   | 时间   |
|--------------------|------|--|
| 预变性                | 95°C | 90sec                                      |
| PCR 反应<br>(45 个循环) | 95°C | 15sec                                      |
|                    | 60°C | 60 sec (采集 FAM 和 Cy5 通道的荧光信号,淬灭基团均为 TAMRA) |

**三、数据处理**

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。如果野生型 PC 没有 FAM 扩增信号 (有标准的倒 S 扩增曲线, 下同), 或突变型 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（野生型 PC 有 FAM 扩增信号，突变型 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 Cy5 值/FAM 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    | 野生型         |
| 有扩增    | 有扩增    | 杂合子         |
| 无扩增    | 有扩增    | 突变型         |
| 无扩增    | 无扩增    | 阴性 PC 或无效数据 |

PCR 编号

TW-E10232

**上海通蔚**

|              |                        |
|--------------|------------------------|
| <b>说明书</b>   | 1 份                    |
| <b>自备试剂</b>  | 样品 DNA                 |
| <b>运输及保存</b> | 低温运输, -20°C保存, 有效期 1 年 |

**生产企业: 上海通蔚实业有限公司**

**公司地址: 上海市松江区九亭镇研展路158弄15号1603**

**公司电话: 021-54845833**

**技术支持: 15800441009**