

乙醛脱氢酶实时荧光 PCR SNP 分型检测试剂盒

【产品说明】

乙醛脱氢酶 ALDH2 基因存在单核苷酸多态性 (SNP) (rs671, G>A), 携带 A 等位基因的人群编码乙醛脱氢酶的第 487 位氨基酸发生谷氨酸 (Glu) 到赖氨酸 (Lys) 的改变, 进而导致其编码的酶活性降低或丧失, 饮酒后使乙醛在体内快速堆积, 当血液中乙醛达到一定浓度时, 引起面部泛红、恶心头晕、心跳加速、呼吸困难等“面红反应”。本试剂盒采用 MGB 探针法实时荧光 PCR 进行乙醛脱氢酶 ALDH2 的 SNP 分型检测, 可对个体酒精代谢能力进行评估, 合理饮酒提供科学指导。

【试剂盒组成】

组成	50 人份	贮藏条件
阴性对照 (无核酸酶水)	1 mL	-20°C
阳性对照	20 µL	
PCR 反应液	550 µL	
引物、荧光探针混合液	330 µL	
说明书	1 份	

【需要自备的器材】

1. 试剂: 核酸提取试剂。
2. 仪器: 离心机、双/四通道荧光 PCR 扩增仪、匀浆仪、-20 °C 冰箱、可调移液器 (2 µL、20 µL、200 µL、1000 µL)。
3. 耗材: 荧光 PCR 反应管、吸头 (10 µL、200 µL、1000 µL)。

【使用注意事项】

- 建议与源微生物提供的柱式或磁珠法核酸提取试剂盒配套使用。
- PCR 整个试验分配液区、模板提取区、扩增区; 流程顺序为配液区→模板提取区→扩增区; 严禁器材和试剂倒流。
- 所有试剂应在规定条件下储存, 冻存的试剂使用前应完全融化、混匀, 瞬时离心 15 s, 使液体全部沉于管底, 放于冰盒中, 吸取液体时移液器吸头尽量在液体表面层吸取, 使用后立即放回 -20 °C 冻存。
- 注意防止试剂盒各组分污染。
- 严格遵守操作说明, 操作过程中移液、定时等全部过程必须精确。
- 反应体系应在特定配液区或者超净工作台中配制, 整个实验过程严格控制污染。
- 避免反复冻融试剂降低检测灵敏度, 本试剂盒应尽量在 3 次内用完。

【样品要求】

按规范采集取口腔拭子 2 个, 唾液或抗凝血 2 mL。

【核酸提取】

采用离心柱法或磁珠法核酸提取试剂盒等提取样品中的核酸，低温保存、待检测。

【实时荧光 PCR 操作】

设被检样品、阴性对照和阳性对照总和为 N， 则反应体系配制如下：

试剂	体系
无菌无核酸酶水	4× (N+1) μL
PCR 反应液	8× (N+1) μL
引物、荧光探针混合液	6× (N+1) μL

将以上配制的反应体系充分混匀后，分装每个反应管中各 18 μL。

分别取 2 μL 模板 DNA，加入相应反应管中，混匀并作好标记。在荧光 PCR 扩增仪上进行以下反应：预变性 95 °C 2 min，循环 95 °C 10 s，55 °C 35 s，共 40 次，每次循环的第二步（60 °C 35 s）收集荧光信号（报告基团“A 等位基因-VIC、G 等位基因-FAM”，淬灭基团都为“None”）。

【结果判定】

1. 结果分析条件设定

阈值设定原则：仪器自动生成，或者根据具体扩增曲线或仪器噪音情况进行适当调整。

2. 试验成立条件

阳性对照 VIC 和 FAM 通道 Ct 值均<35 且出现特异性扩增曲线，阴性对照均无 Ct 值或 Ct 值≥35 且无特异性扩增曲线，判为试验有效。试验无效时应重新进行试验。

3. 结果描述及判定

VIC 通道和 FAM 通道被检样品 Ct 值<35 并出现特异的扩增曲线，判为乙醛脱氢酶 A 等位基因及 G 等位基因阳性；VIC 通道和 FAM 通道无 Ct 值且无特异的扩增曲线，判为乙醛脱氢酶 A 等位基因及 G 等位基因阴性；VIC 通道或 FAM 通道 35≤Ct 值<40 并出现特异的扩增曲线，判为乙醛脱氢酶 A 等位基因或 G 等位基因疑似，对疑似样品，需重新取样提取 DNA，进行复检，Ct 值<40 判为阳性，否则判为阴性。

综合判定结果	检测结果		基因分型结果
	VIC	FAM	
含有 A 和 G 等位基因	+	+	rs671: GA 杂合
含 A 等位基因，不含 G 等位基因	+	—	rs671: AA 纯合
不含 A 等位基因，含 G 等位基因	—	+	rs671: GG 纯合
试剂失效或者体系配制错误等	—	—	

注：“+”代表检测阳性；“—”代表检测阴性。

4. 表现型概述

ALDH2 GA 杂合型或 AA 纯合型，乙醛脱氢酶突变活性显著降低或几乎没有活性，乙醛代谢能力较弱，GG 纯合型乙醛脱氢酶活性正常，乙醛能正常代谢。

【规格】50 人份/盒

【保存及有效期】于-20 °C 以下保存，有效期为 12 个月。