

【产品名称】人类 ApoE、SLCO1B1 基因多态性检测试剂盒（荧光 PCR 法）

【包装规格】32 测试/盒

【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人全血样本中 ApoE 基因 c.388T>C 和 c.526C>T 位点、SLCO1B1 基因 c.388A>G 和 c.521T>C 位点的基因型。

他汀类药物是降低低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）水平从而降低心血管疾病风险的药物。但是，不同个体对他汀类药物的反应不同，他汀类药物在肝脏代谢和转运会因为个体遗传特性而不同，特别是参与他汀类药物肝脏代谢的关键性转运蛋白如阴离子转运多肽(OATP1B1)(由 SLCO1B1 基因编码)以及载脂蛋白 E (Apolipoprotein E, ApoE)的基因多态性可影响他汀类药物的血浆及肝脏浓度，从而影响他汀类药物的疗效和安全性。因此依据本试剂盒检测结果，可从药物基因组学与药物相互作用角度分析药物使用风险，为临床用药选择提供参考依据。检测结果仅供临床医生参考，不可作为制定临床诊疗方案的唯一依据。

载脂蛋白 E 参与血脂的运输、存储和排泄。人 ApoE 基因位于 19 号染色体，该基因有两个功能性核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)位点 c.388T>C 和 c.526C>T。这两个位点形成 3 种单倍体 E2、E3、E4。文献报道，ApoE4 携带者患冠心病风险要高 40%，他汀类药物对 ApoE4 携带者的疗效往往不佳，而对 ApoE2 携带者的降脂作用最强。

有机阴离子转运多肽参与多种药物转运，在他汀类药物代谢中负责将血液中的药物转移至肝脏直接发挥药效或者转化为有活性的物质。由 12 号染色体上的 SLCO1B1 基因编码。有两个主要的 SNP，分别为（c.388A>G）和（c.521T>C）。这两个 SNP 位点可形成四种单倍体：SLCO1B1*1a (388A-521T)，SLCO1B1*1b (388G-521T)，SLCO1B1*5 (388A-521C)，SLCO1B1*15 (388G-521C)。突变型 SLCO1B1 基因引起编码的 OATP1B1 转运蛋白活力减弱，表现为肝脏摄取药物能力降低，引起他汀类药物血药浓度上升，增加横纹肌溶解症或肌病的发生风险。

本试剂盒检测 ApoE、SLCO1B1 基因多态性类型

基因	基因型	SNP 位点
ApoE	E2	388T/526T
	E3	388T/526C
	E4	388C/526C
SLCO1B1	*1a	388A/521T
	*1b	388G/521T
	*5	388A/521C
	*15	388G/521C

【检验原理】

本试剂盒选用具有高抗干扰特性的 Taq 酶和配套缓冲体系，可耐受血液中的 PCR 抑制因子，对稀释全血可直接扩增。本试剂盒采用荧光 PCR 技术针对人类 ApoE 基因 c.388 和 c.526 位点、SLCO1B1 基因 c.388 和 c.521 位点分别设计 ARMS 引物、Taqman 探针，定性检测相应位点基因型。同时本试剂盒加入了内源性 RNA 水解酶编码基因 RPPH1 内标检测系统，可有效监控全部检测过程，防止假阴性的发生。

【主要组成成分】

组分名称	主要成分	规格数量
人类 ApoE 引物探针混合液 1	引物、荧光探针、酶	96μL×1
人类 ApoE 引物探针混合液 2	引物、荧光探针、酶	96μL×1
人类 SLCO1B1 引物探针混合液 1	引物、荧光探针、酶	96μL×1
人类 SLCO1B1 引物探针混合液 2	引物、荧光探针、酶	96μL×1
人类 ApoE、SLCO1B1 反应液	Tris-HCl、KCl、MgCl ₂ 、dNTPs	640μL×1
人类 ApoE、SLCO1B1 阳性对照	含所有目标基因靶序列多态性位点的 DNA 重组质粒	90μL×1
人类 ApoE、SLCO1B1 阴性对照	氯化钠	90μL×1
人类 ApoE、SLCO1B1 样本稀释液	氯化钠	9280μL×1
人类 ApoE、SLCO1B1 反应增强剂	Tris-HCl	1280μL×1

注：不同批号试剂盒中各组分不可以互换

【储存条件及有效期】

-20℃±5℃保存，有效期 12 个月。

试剂开瓶后反复冻融不得超过三次，在 15℃~25℃条件下放置时间累计不超过 8 小时。本产品应以冰盒加干冰进行运输，模拟运输实验表明，本产品在 -25℃~5℃运输不会影响产品的稳定性和有效期，但运输时间不应超过 7 天。试剂生产日期及失效日期见包装标签。

【适用仪器】

扩增检测仪器应选择具有 FAM、TEXAS RED 和 CY5 三个检测通道的荧光定量 PCR 仪，西安天隆科技有限公司的全自动医用 PCR 分析系统 Gentier 96E、Panall 8000 和 Life Technologies 的 7500 实时荧光定量 PCR 仪。

【样本要求】

1. 样本类型：EDTA 抗凝全血。
2. 采集方法：抽取受检者静脉血 2~3mL，注入含 EDTA 抗凝剂的采血管，立即轻轻颠倒混合 5~10 次，使抗凝剂与静脉血充分混匀。
3. 存放：样本 2℃~8℃保存不超过 72 小时；-20℃±5℃保存不超过 12 个月，但反复冻融不超过 5 次。

【检验方法】

1. 试剂配制【试剂准备区】

从检测试剂盒中取出人类 ApoE 引物探针混合液 1、人类 ApoE 引物探针混合液 2、人类 SLCO1B1 引物探针混合液 1、人类 SLCO1B1 引物探针混合液 2、人类 ApoE、SLCO1B1 反应液和人类 ApoE、SLCO1B1 反应增强剂，室温融化并振荡混匀，2000rpm 离心 10 秒。按（n 测试+2）计算各试剂用量，每个体系分别加入一适当离心管中混匀。按 18μL 每管分装到 PCR 薄壁管中，做好标记转移到样本处理区。

每个测试配制 4 个反应体系，配制方法如下：

反应体系	引物探针混合液 (μL)	反应液 (μL)	反应增强剂 (μL)	总体积 (μL)
体系 1	3μL (人类 ApoE 引物探针混合液 1)	5μL	10μL	18μL
体系 2	3μL (人类 ApoE 引物探针混合液 2)	5μL	10μL	18μL
体系 3	3μL (人类 SLCO1B1 引物探针混合液 1)	5μL	10μL	18μL
体系 4	3μL (人类 SLCO1B1 引物探针混合液 2)	5μL	10μL	18μL

2. 样本处理【样本处理区】

从试剂盒中取出人类 ApoE、SLCO1B1 样本稀释液，室温融化并振荡混匀，取（n 测试+2）支 0.5mL 离心管，每支分装 290μL。取 10μL 混合均匀的全血标本、阴性对照及阳性对照分别加入分装好的稀释液中，编号涡旋混匀后备用。

3. 加样【样本处理区】

处理好的样本、阴性对照和阳性对照分别取 2μL 加入分装好的体系 1~体系 4 反应管中，盖紧管盖，涡旋混匀 5 秒，瞬时离心转移至 PCR 扩增区，建议样本稀释后立即用于扩增检测，以达到最佳检测效果，若暂时无法立即进行检测，样本稀释后在室温(25℃~29℃)条件下保存不超过 8 小时，在 2℃~8℃冰箱保存不超过 16 小时。

4. 将各反应管按一定顺序放入荧光 PCR 扩增仪上，按以下程序进行 PCR 扩增：

步骤	循环数	温度 (°C)	时间
1	1	95	3 分钟
2	45	95	15 秒
		63.5	45 秒（采集荧光）

检测荧光选择：检测基因（FAM 通道、TEXAS RED 通道），内标基因（CY5 通道）。

【阳性判断值或者参考区间】

本试剂盒阳性判断值为 Ct 值≤36.5，样本基因型|ΔCt|值的 Cutoff 值为 5.0，|ΔCt|值<5 判定为杂合基因型，|ΔCt|值≥5 判定为纯合基因型。

【检验结果的解释】

1. 试剂盒有效性判定

阳性对照：FAM、TEXAS RED 通道 Ct 值≤36.5，扩增曲线有明显指数增长期。

- 阴性对照：各通道均无扩增，Ct>36.5 或无 Ct 值。
如不符合上述条件，则该次实验视为无效，应检查仪器、试剂、扩增条件、实验操作等。
2. 样本有效性判定
内标基因：所有样本检测中 CY5 通道 Ct 值≤36.5，扩增曲线有明显指数增长期。如不符合此条件，则该样本视为无效样本。
3. 基因型判定方式如下表：

检测基因（通道）	体系 1（Ct 值 1）	体系 2（Ct 值 2）	$\Delta Ct=Ct(1)-Ct(2)$	基因型 c.388 T>C
ApoE c.388 T>C FAM 通道	Ct≤36.5	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct(1)< Ct(2),且 Ct(1)-Ct(2) ≥5	CC
	Ct≤36.5	Ct≤36.5	Ct(1)-Ct(2) <5	TC
	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct≤36.5	Ct(1)> Ct(2),且 Ct(1)-Ct(2) ≥5	TT
	Ct≤36.5	Ct≤36.5		
检测基因（通道）	体系 1（Ct 值 1）	体系 2（Ct 值 2）	$\Delta Ct=Ct(1)-Ct(2)$	基因型 c.526 C>T
ApoE c.526 C>T TEXAS RED 通道	Ct≤36.5	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct(1)< Ct(2),且 Ct(1)-Ct(2) ≥5	TT
	Ct≤36.5	Ct≤36.5	Ct(1)-Ct(2) <5	CT
	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct≤36.5	Ct(1)> Ct(2),且 Ct(1)-Ct(2) ≥5	CC
	Ct≤36.5	Ct≤36.5		
检测基因（通道）	体系 3（Ct 值 3）	体系 4（Ct 值 4）	$\Delta Ct=Ct(3)-Ct(4)$	基因型 c.388A>G
SLCO1B1 c.388A>G FAM 通道	Ct≤36.5	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct(3)< Ct(4),且 Ct(3)-Ct(4) ≥5	AA
	Ct≤36.5	Ct≤36.5	Ct(3)-Ct(4) <5	AG
	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct≤36.5	Ct(3)> Ct(4),且 Ct(3)-Ct(4) ≥5	GG
	Ct≤36.5	Ct≤36.5		
检测基因（通道）	体系 3（Ct 值 3）	体系 4（Ct 值 4）	$\Delta Ct=Ct(3)-Ct(4)$	基因型 c.521T>C
SLCO1B1 c.521T>C TEXAS RED 通道	Ct≤36.5	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct(3)< Ct(4),且 Ct(3)-Ct(4) ≥5	TT
	Ct≤36.5	Ct≤36.5	Ct(3)-Ct(4) <5	TC
	Ct>36.5 或无 Ct 值	Ct≤36.5	Ct(3)> Ct(4),且 Ct(3)-Ct(4) ≥5	CC
	Ct≤36.5	Ct≤36.5		

注：无 Ct 值表示扩增 Ct 值>45；Ct>36.5 或无 Ct 值时直接判读基因型，不使用 ΔCt 计算方法判读基因型。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒仅用于检测全血样本，不能检测其他组织样本。
2. 实验区域污染、气溶胶污染有可能造成假阳性结果。
3. 不合理的样本采集、转运、储存及处理过程均有可能导致错误的检测结果。
4. 若检测点附近存在其他稀有变异，则可能对检测结果造成干扰，以致无法检出正确结果。
5. 骨髓移植患者不建议进行该检测。

【产品性能指标】

1. 外观：试剂盒包装、标签完好、无破损，各组件放置位置正确。
2. 基因型符合率：9 份基因型参考品 Q1~Q9 的检验结果均应符合参考品基因型，符合率（+/-）为 9/9。
3. 检测限：检测限参考品 L1~L4（白细胞数 1000 个/μL 全血样本），重复检测 3 次，均需准确检出对应基因型。
4. 精密度：精密度参考品，J 低（白细胞数为 3000 个/μL）、J 高（10000 个/μL 全血样本），分别重复测试 10 次，Ct 值的变异系数（CV,%）≤5%。
5. 检测范围：白细胞含量 1000 个白细胞/μL-100000 个白细胞/μL 的 EDTA 抗凝全血样本可正确检出基因型。
6. 特异性：试剂盒与病原微生物 1.0×10³ IU/mL HBV 病毒、1.0×10³ IU/mL HCV 病毒及同源序列 100ng/μL 人 APOC1 基因、100ng/μL 人 SLCO1B1 *6 基因均无交叉反应；30mg/mL 血红蛋白、37mM 甘油三酯、60mg/ml 胆红素、0.3M 氯化钠、20mg/mL 的 EDTA 抗凝剂、16μg/mL 阿托伐他汀、8μg/mL 瑞舒伐他汀、0.8μg/mL 匹伐他汀、8μg/mL 普伐他汀、4mg/mL 苯巴比妥、10mg/mL 消炎痛、10mg/mL 柳氮磺吡啶等对结果无干扰影响。

【注意事项】

1. 有关实验室管理规范请严格按照卫办医政发（2010）194 号颁布的《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》等有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。
2. 本试剂盒仅用于体外检测。
3. 本试剂盒的所有操作应严格按照说明书进行。
4. 实验室严格分区操作，各区物品均为专用，不得交换使用，避免污染，每次实验完后立即清洁工作台。
第一区：试剂准备区-准备扩增所需试剂；
第二区：样本处理区-待检测样本和对照品的处理；
第三区：PCR 扩增区-PCR 扩增检测。
5. 使用不含荧光物质的一次性手套、一次性专用离心管、自卸式移液枪和带滤芯吸头。
6. 试剂准备和样本处理应使用超净工作台（负压式）或防污染罩，以防止对环境污染。反应液分装时应尽量避免产生气泡，上机前注意检查各反应管是否盖紧，以免荧光物质泄露污染仪器。加样时应使样品完全加入反应液中，不应有样品粘附于管壁上，加样后应尽快盖紧管盖。扩增完毕请立即取出反应管，放于指定地点，按照医疗废弃物统一处理。
7. PCR 反应混合液应避光低温保存，请在有效期内使用，不同批号的试剂请勿混用。

【参考文献】

1. 《体外诊断试剂说明书编写指导原则》。
2. Ju-yi Li, Jin-hu Wu, Yan Zhang, et al. TaqMan Real-Time Polymerase Chain Reaction and Pyrosequencing using Single Nucleotide Polymorphism Protocol for Rapid Determination of ApoE in a Chinese Population. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2005, 14(9):1679-1684.
3. Meng-Lin Zheng, Xie-Min Qi, Huan Tong, et al. Detection of Single Nucleotide Polymorphism Genotyping by Real-time Polymerase Chain Reaction Coupled with High Specific Invader Assay in Single Tube. Chin J Anal Chem, 2015, 43(7):1001—1008.

【基本信息】

注册人名称：西安天隆科技有限公司
住所：陕西省西安市经济技术开发区高铁新城尚林路 4266 号天隆科技产业园
联系电话：029-82218051 传真号码：029-82216680 网址：www.medtl.com
售后服务单位名称：西安天隆科技有限公司
联系电话：029-82218051 传真号码：029-82216680 网址：www.medtl.com
受托生产企业名称：苏州天隆生物科技有限公司
住所：中国（江苏）自由贸易试验区苏州片区苏州工业园区金鸡湖大道 99 号苏州纳米城东北区 NE-33 栋
生产地址：苏州工业园区金鸡湖大道 99 号苏州纳米城西北区 07 栋（NW-07）501 室、苏州工业园区金鸡湖大道 99 号苏州纳米城西北区 06 栋（NW-06）504 室
生产许可证编号：苏药监械生产许 20140001 号
【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】国械注准 20233400658
【说明书核准日期及修改日期】核准日期：2023 年 5 月 22 日