

人类 SLC01B1 和 ApoE 基因检测试剂盒（PCR-荧光探针法）
使用说明书

【产品名称】

人类 SLC01B1 和 ApoE 基因检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

【包装规格】

20 人份/盒

【预期用途】

该产品用于定性检测全血样本中的 SLC01B1 基因 SLC01B1*1b 388A>G、SLC01B1*5 521T>C 位点和 ApoE 基因 ApoE2 526C>T、ApoE4 388T>C 位点的多态性。

本产品检测结果仅代表对人类 SLC01B1 和 ApoE 基因的检测结果，为临床医生个体化用药提供参考，本试剂盒仅用于临床辅助诊断，具体临床应用时，临床医生需结合病例的实际情况进行判断，不能以本试剂盒检测结果作为临床诊断的唯一依据。

他汀类药物（statins）自从问世以来就成为世界上临床使用最为广泛的降脂药，该类药物对抑制心脑血管疾病也有显著作用。他汀类药物通过竞争性抑制 HMG-CoA（三羟三甲基戊二酰辅酶 A）还原酶从而减少胆固醇的生物合成，进而达到降低血脂的作用。

有机阴离子转运多肽（OATP1B1）参与多种药物的转运，在他汀类药物代谢中负责将血液中的药物转移至肝脏中直接发挥药效或代谢转化为有活性的物质，由定位在 12 号染色体上的 SLC01B1 基因编码。研究表明 SLC01B1 基因具有遗传多态性，其中 388A>G、521T>C 是两种常见的单核苷酸多态性，可以形成 4 种单倍型 SLC01B1*1a (388A-521T)、SLC01B1*1b (388G-521T)、SLC01B1*5 (388A-521C) 和 SLC01B1*15 (388G-521C)。突变型 SLC01B1 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。

载脂蛋白 E（ApoE）通过多种途径参与机体的脂质代谢调节，是影响机体血脂水平的重要内在因素。ApoE 多态性被认为是高脂蛋白血症及动脉粥样硬化性血管病的易感候选基因。人类 ApoE 基因定位于 19 号染色体上，有 4 个外显子和 3 个内含子，主要有两种单核苷酸多态性 526C>T 和 388T>C，可以形成 3 种单倍型分别是 ApoE3 (388T-526C)、ApoE2 (388T-526T)、ApoE4 (388C-526C)。文献报道，ApoE4 携带者患冠心病的风险要高 40%，并且他汀类药物对 ApoE4 携带者疗效往往不佳或无疗效，而对 ApoE2 携带者的降脂作用最强。

表 1：本试剂盒检测 SLC01B1 和 ApoE 基因多态性类型

基因	多态性	碱基	检测通道
SLC01B1	SLC01B1*1b 388A	AAT	FAM
	SLC01B1*1b 388G	GAT	VIC
	SLC01B1*5 521T	GTG	FAM
	SLC01B1*5 521C	GCG	VIC
ApoE	ApoE2 526C	CGC	FAM
	ApoE2 526T	TGC	VIC
	ApoE4 388T	TGC	FAM
	ApoE4 388C	CGC	VIC

【检验原理】

本试剂盒针对 SLC01B1 基因和 ApoE 基因各个 SNP 位点的不同多态性，设计了 4 套特异性引物和探针组合，一个反应体系中通过两种不同通道检测一个位点的基因多态性。在反应体系中含有不同基因型模板的情况下，PCR 反应得以进行并释放不同的荧光信号。利用仪器对 PCR 过程中相应通道的信号强度进行实时监测和输出，实现检测结果的定性分析。

【主要组成成分】

表 2：试剂盒组成

管号	标签名称	主要组成成分	装量规格 (20 人份/盒)
1	SLC01B1*1b 反应液	PCR 缓冲液、特异性引物和探针、内标引物、探针和模板、Taq 酶、UNG 酶	1 管（480 μL）
2	SLC01B1*5 反应液	PCR 缓冲液、特异性引物和探针、内标引物、探针和模板、Taq 酶、UNG 酶	1 管（480 μL）
3	ApoE2 反应液	PCR 缓冲液、特异性引物和探针、内标引物、探针和模板、Taq 酶、UNG 酶	1 管（480 μL）

4	ApoE4 反应液	PCR 缓冲液、特异性引物和探针、内标引物、探针和模板、Taq 酶、UNG 酶	1 管（480 μL）
5	弱阳性对照	SLC01B1*5 521T、SLC01B1*5 521C、SLC01B1*1b 388A、SLC01B1*1b 388G 和 ApoE 526T-388T、ApoE 526C-388C 的质粒混合液	1 管（200 μL）
6	空白对照	Tris-HCl 缓冲液 (10mM)	1 管（200 μL）

【储存条件及有效期】

- 20℃±5℃避光保存，有效期为 9 个月。
- 生产日期及有效期至：见标签。
- 试剂盒在使用时应尽量减少试剂冻融次数，并保证不多于 6 次冻融。

【适用仪器】

- 本试剂盒适用于 StratageneMX3000P、AB7500、LightCycler 480 实时荧光定量 PCR 仪。
- 本试剂盒要求仪器使用 FAM、VIC 通道采集不同多态性的 SLC01B1 和 ApoE 基因扩增荧光信号，使用 ROX 通道采集内标基因扩增荧光信号。

【样本要求】

本试剂盒适用于 2mlEDTA 抗凝新鲜全血中提取人类基因组 DNA 的检测。所提取 DNA 需用紫外分光光度计测定浓度及纯度，要求 DNA 的 A260/280 在 1.8-2.0 之间，-20℃以下保存，避免反复冻融。

【检验方法】

- 试剂准备：（试剂准备区）
 - 从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温，各组充分融解，快速离心 10 秒。
 - 核算当次实验所需要的反应数（n），按照 23 μL/孔分装量将每种反应液分别装到 n 个反应管内。PCR 反应管转移至样本准备区，剩余试剂放回-20℃±5℃冰箱冷冻避光保存。

n =样本数+空白对照（1T）+弱阳性对照（1T）
- 样本准备：（样本准备区）
 - 样本 DNA 提取：推荐使用天根血液基因组 DNA 提取试剂盒（TIANamp Blood DNA Kit DP318）用于血液基因组 DNA 的提取。所提取 DNA 需用紫外分光光度计测定浓度及纯度，要求 DNA 的 A260/280 在 1.8-2.0 之间。
 - 加样：
 - 将待测样本的基因组 DNA、弱阳性对照、空白对照，分别加入已装有 4 种 PCR 反应液的反应管中，即每个待测样本分别用此 4 种 PCR 反应液进行检测，加入量为 2 μL/孔。待测样本的基因组 DNA 推荐浓度为 5-15ng/μL。
 - 盖好 PCR 反应管盖，记录样本加样情况。将 PCR 反应管转移到核酸扩增区进行上机检测。若 PCR 反应管内加入模板后遇临时情况不能立即上机，建议将加好模板的 PCR 反应管放于 2~8℃条件暂时保存，并在 24 小时内尽快上机检测。
- PCR 扩增：（核酸扩增区）
 - 开机，并进行仪器性能自检。
 - 取样本准备区准备好的 PCR 反应管，放置在仪器样品槽相应位置。并记录放置顺序。
 - 按表 3 设置仪器扩增相关参数，并开始进行 PCR 扩增。反应结束后，根据扩增曲线，划定合适基线（一般起始设定为 3，终止设定为 15）和荧光阈值（一般将阈值划定在扩增曲线对数形式下指数增长期的中间），得到不同通道 Ct 值并按照表 4 进行结果判定。

表 3：仪器核酸扩增相关参数

体系	总体积为 25 μL	
信号采集	SLC01B1*1b 反应液	SLC01B1*1b 388A—FAM 通道采集荧光信号
		SLC01B1*1b 388G—VIC 通道采集荧光信号
	SLC01B1*5 反应液	SLC01B1*5 521T—FAM 通道采集荧光信号
		SLC01B1*5 521C—VIC 通道采集荧光信号
	ApoE2 反应液	ApoE2 526C—FAM 通道采集荧光信号
		ApoE2 526T—VIC 通道采集荧光信号
	ApoE4 反应液	ApoE4 388T—FAM 通道采集荧光信号
		ApoE4 388C—VIC 通道采集荧光信号
	内标系统	内标基因—ROX 通道采集荧光信号

PCR 反应条件	阶段	条件	循环数
	UNG 处理	37℃：10 分钟（min）	1
	预变性	95℃：5 分钟（min）	1
	PCR	95℃：15 秒（s）	40
		60℃：45 秒（s） （设置在此阶段结束时采集荧光信号）	

【检验结果的解释】

- 1.试剂盒有效性判定：
- 1）弱阳性对照：FAM、VIC 通道 Ct 值≤32，扩增曲线有明显指数增长期。
- 2）空白对照：FAM、VIC 通道无扩增曲线，或者扩增曲线为直线或轻微斜线，无明显指数增长期，无 Ct 值或 Ct 值≥38。
- 3）内标基因：ROX 通道 Ct 值≤32，有明显扩增曲线。检测样本的反应管中，若 FAM、VIC 通道有信号，ROX 通道信号较低或无信号，此为样本基因组 DNA 加入过量，建议将样本稀释至合适浓度后进行检测。
2. 检测结果的判定：
- 分别按照下表 4 对样本检测结果进行判定，确定样本基因多态性。

表 4：SLC01B1 和 ApoE 基因多态性结果判定

反应液	基因多态性	FAM 通道	VIC 通道
SLC01B1*1b 反应液	SLC01B1*1b 388A/A 纯合野生	Ct 值<38	Ct 值≥38 或无 Ct 值
	SLC01B1*1b388A/G 杂合突变	Ct 值<38	Ct 值<38
	SLC01B1*1b388G/G 纯合突变	Ct 值≥38 或无 Ct 值	Ct 值<38
SLC01B1*5 反应液	SLC01B1*5521T/T 纯合野生	Ct 值<38	Ct 值≥38 或无 Ct 值
	SLC01B1*5521T/C 杂合突变	Ct 值<38	Ct 值<38
	SLC01B1*5521C/C 纯合突变	Ct 值≥38 或无 Ct 值	Ct 值<38
ApoE2 反应液	ApoE2 526C/C 纯合野生	Ct 值<38	Ct 值≥38 或无 Ct 值
	ApoE2 526C/T 杂合突变	Ct 值<38	Ct 值<38
	ApoE2 526T/T 纯合突变	Ct 值≥38 或无 Ct 值	Ct 值<38
ApoE4 反应液	ApoE4 388T/T 纯合野生	Ct 值<38	Ct 值≥38 或无 Ct 值
	ApoE4 388C/T 杂合突变	Ct 值<38	Ct 值<38
	ApoE4 388C/C 纯合突变	Ct 值≥38 或无 Ct 值	Ct 值<38

【检验方法的局限性】

1. 样本检测结果与样本的收集、处理和保存过程有关，其中任何失误都将导致检测结果的不准确。如果样本处理时未控制好 DNA 的质量，可能出现假阴性的结果。
2. 本试剂盒未包含全部的人类 SLC01B1 和 ApoE 基因型别，因此当本试剂盒检测结果为阴性时，并不能排除被检测者带有人类 SLC01B1 和 ApoE 基因位点。本试剂盒检测结果仅供临床参考，用于指导个体化用药，不得作为临床诊治的唯一依据。

【产品性能指标】

1. 试剂盒包装完整，无内容物溢出；标签外观完整，无脱落，标签标识内容清晰；试剂盒内组成正确，无重复、缺失组份的情况。
2. 使用试剂盒 4 种反应液检测 SLC01B1 和 ApoE 基因突变型参考品，应检测出对应突变。
3. 使用试剂盒 4 种反应液检测 SLC01B1 和 ApoE 基因野生型参考品，应不得检出突变。
4. 试剂盒最低检出限可达到：1ng 样本中能准确检测出对应基因型。
5. 使用试剂盒重复检测对应基因型参考品 10 次，应检出对应基因型，且检测结果 Ct 值变异系数 CV≤5%。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅供体外诊断使用。
2. 不同批号试剂不能混用。
3. 本试剂盒内弱阳性对照不具有传染性，但在使用时建议将其视为具有潜在传染性物质进行处理。

4. 本试剂盒内用剩的试剂及实验过程中的废弃物建议按照医疗废弃物进行处理。

【参考文献】

1. NEngl J MED, 2008; 359(8):789-799.
2. Med Clin North Am, 2012; 96(1):123-139
3. Clin Pharm Ther, 2012; 92(1):112-117.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：武汉友芝友医疗科技股份有限公司

住所：武汉市东湖新技术开发区高新二路388号武汉光谷国际生物医药企业加速器1.2期23栋1单元4、5层

联系方式：027-65330996

售后服务单位名称：武汉友芝友医疗科技股份有限公司

联系方式：027-65330996

生产地址：武汉市东湖新技术开发区高新大道 858 号生物医药园加速器一期 A4 栋西側 1 楼

生产许可证编号：鄂食药监械生产许 20120580 号

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注准 20153400245

【说明书核准日期及修改日期】

2019 年 12 月 23 日