

人类白细胞抗原 B*1502 测定试剂盒（基因法）说明书

货号：SC-B1502 规格：50 人份/盒

项目意义：

调查研究表明，卡马西平，苯妥英等药物用于HLA—B*1502等位基因阳性亚裔患者治疗出现史蒂文斯—约翰逊综合征(sJS)和中毒性表皮坏死松解症(TEN)的严重皮肤反应的初步数据。HLA—B*1502是一种人类白血球抗原(HLA)等位基因，几乎只存在于亚洲人种之中，包括中国汉族人、菲律宾人、马来西亚人、南亚印度人和泰国人。

在中国、泰国、马来西亚、印度尼西亚、菲律宾和台湾地区，估计有10%~15%甚至更多的患者携带HLA—B*1502等位基因。包括印度人在内的南亚人携带该基因的比率中等，平均为2%~4%，但在一些人群中比率较高。日本人和韩国人携带此基因的比率较低，不到1%。

目前卡马西平，苯妥英等抗癫痫的药品说明书建议，可能携带HLA—B*1502等位基因的患者在接受卡马西平，苯妥英等抗癫痫卡马西平治疗之前应进行HLA—B*1502等位基因筛查，筛查结果阳性的患者不宜使用卡马西平，苯妥英等抗癫痫，除非其效益明显大于风险。

目前HLA-B27检测手段主要有血清学方法如微量淋巴细胞毒试验(CDC)、流式细胞术(FCM)以及引物特异性聚合酶链反应(SSP-PCR)。SSP-PCR是目前被广泛采用的检测HLA-B1502的方法。该方法实验过程简单，只需一次PCR反应就可得到确定的结果。若检测样本DNA中带有B*1502基因，则利用B*1502的序列特异性引物，就可以扩增出目的条带。

SSP-PCR的检测方法过程简单，所需仪器只是实验室常用设备，项目容易开展。该检测方法的灵敏度高、特异度好、漏诊率低，并且结果判读简单明了。

试剂盒简介：

本方案结合HLA—B*1502碱基序列设计特异性的引物，使PCR反应结果更稳定可靠，具有以下特点：

1. 三孔反应管同时检测内参条带和B*1502基因，无需另做内参检测。
2. 只需一次PCR反应，根据阳性带的出与不出就可得到确定的结果，判断简单。
3. 最少仅需5ng基因组DNA（约相当于750个细胞）即可得到理想的检测结果。

使用说明：**1. PCR 准备：**

本试剂盒每三管为一个独立的检测反应，按照以下步骤配制一人份PCR Mix：

	1 well	10well	N well
DNA	1ul		
Primer	2ul (P1,P2,P3 分别加入)	20ul	2ulx
PCR Buffer	6ul	60ul	6ulx
水/PLUSA	2.8ul	28ul	2.8ulx
Taq 酶	0.078ul	0.78ul	0.078ulx

混匀，将混合液加入反应孔中，向每孔内加10ul石蜡油（防止蒸干），然后立即进行扩增。

北京思尔成生物技术有限公司

地址：北京经济技术开发区宏达北路10号万源商务中心5001室

电话：400-650-1950 传真：010-67880126-816

2. 扩增

按照以下程序进行扩增：

循环数	Hold	5 cycles			21 cycles			4 cycles			Hold
步骤	1	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1
温度(°C)	96	96	70	72	96	65	72	96	55	72	12
时间(秒)	60	25	50	45	25	50	45	25	60	120	forever

3. 电泳：

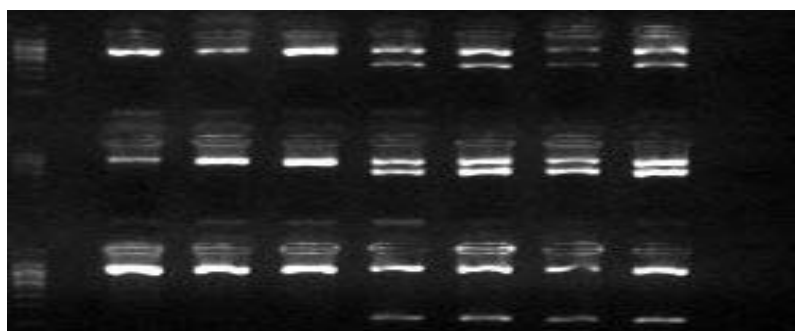
1. 用 0.5X 的 TBE 制备 2% 的电泳胶。
2. 0.5X TBE 作电泳液，用加样枪加 6ul 于电泳胶孔内。加 DL1000 Marker。
3. 150 伏特电泳 10 分钟。照相。

结果分析：

- 1) 均应有 1014bp 的内参基因扩增条带，该条带存在说明 DNA 模板和 PCR 反应正常。
- 2) 三孔同时出现阳性条带（P1 引物可出 425bp 带，P2 引物可出 550bp 带，P3 引物可出 125bp 带）出现说明样本含有 B1502 基因序列。
- 3) 无阳性条带，或三孔出两孔阳性带，或三孔出一孔阳性带说明样本阴性。

示例：

M S1 S2 S3 S4 S5 S6 S7 S8



由上而下依次为 1000、700、500、400、300、200、100bp 的 DNA 分子量标记。

S1、S2、S3：B1502 阴性标本。

S4、S5、S6、S7：B1502 阳性标本。

S8：H₂O

注意事项：

1. DNA 模板量：

本试剂盒每反应所需最佳模板量为 5ng 基因组 DNA，过多的 DNA 模板使用会导致扩增条带太强，影响电泳的美观性。

由于不同实验室提取的 DNA 质量有所差异，质量差的 DNA 会对 PCR 的扩增效率有所影响，可尝试将 DNA 量增加至 50ng 以保证检测结果。

2. 运输和保存：

本试剂盒可室温运输和短期保存，长期保存请保存于 -20℃ 或更低温度。有任何问题，请拨打北京思尔成生物技术有限公司电话：400-650-1950

北京思尔成生物技术有限公司

地址：北京经济技术开发区宏达北路 10 号万源商务中心 5001 室

电话：400-650-1950 传真：010-67880126-816