

PRIMER
DESIGN

がん関連遺伝子変異検出用 リアルタイムPCRキット quasa[®] Genotyping kit

- 👍 独自の修飾プライマーによる高い特異性
- 👍 野生型と変異型の両方を含むポジティブコントロールにより、これらの相対的な割合が測定可能
- 👍 各種メーカーのリアルタイムPCR装置で使用可能

EGFR
(T790M)JAK2
(V617F)

競合する野生型DNA存在下で低コピー数まで特異的かつ高感度に検出

がんでは、後天的変異が診断、予後、および治療に重要です。しかし、これらの変異は、サンプル中の全DNAの割合として非常に低い全体レベルでしか存在しない可能性があります。

本キットは、quasa (Quantitative Allele Specific Amplification) を使用して、希少な変異を検出します。競合する野生型DNA存在下で低コピー数まで特異的かつ高感度に検出可能です。キットは定量的で、感度 > 0.1% です。キットには、パフォーマンスに不可欠な独自のマスターミックスが付属しています。パッケージ化および最適化されており、すぐに使用できます。

quasa (Quantitative Allele Specific Amplification) とは？

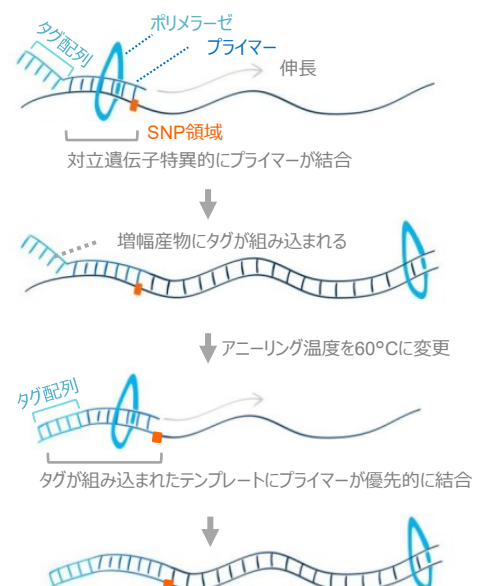
quasa (定量的対立遺伝子特異的増幅) は、臨床サンプルに存在する低頻度の変異を高感度に検出するための方法です。独自の方法により、変異検出用プライマーの3'末端塩基が変異塩基に結合するように設計されています。変異が存在するサンプルでは、効率的な増幅により変異配列が検出されますが、野生型サンプルの場合はミスマッチのため増幅反応が阻害されます。

独自の修飾プライマーとサイクリング条件で特異性を向上

キットには野生型検出用と変異型検出用の2種類のプライマーが付属しています。両プライマーは、3'末端塩基が変異部位を覆うように設計されています。そのため、野生型プライマーの場合は、野生型配列と100%の特異性がありますが、変異型の配列とは1塩基のミスマッチがあり、変異型のテンプレートにはうまくプライミングできません。これが、対立遺伝子特異的PCRの典型的な原理ですが、この原理だけでは特異性を与えるには不十分なことが多く、偽陽性の増幅が一般的に起こり得ます。そこで、本製品では、プライマーに「タグ配列」を加え、特異性のレベルを上げています。

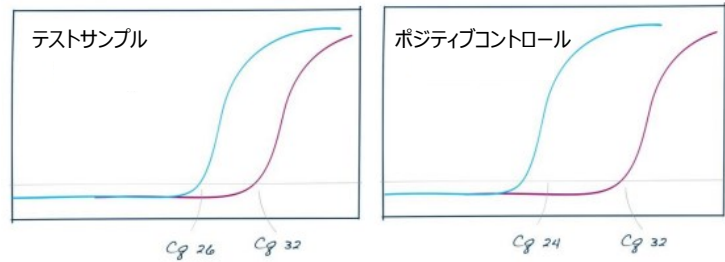
プライマーは、1塩基のミスマッチでより解離しやすいように低い融解温度 (T_m) を有するように設計されています。また、5'末端に配列に無い「タグ配列」が含まれています。このタグ配列は、第1段階の増幅で増幅産物に組み込まれます。

第2段階でアニーリング温度を60°Cに切り替えます。これにより、サンプルの対立遺伝子特異的プライミングはブロックされ、第1段階で増幅されたタグ配列を含むテンプレートに優先的にプライミングします。これは、非常に効率的な増幅とプローブ切断を促進し、感度を向上させます。



野生型と変異型の比率を算出可能

キットには、既知のコピー数の野生型と変異型の両方の配列を含むポジティブコントロールが付属しています。野生型と変異型テンプレートの比率は100 : 1であり、これは非常に低いレベルで変異体配列を含む可能性のあるいくつかの生物学的サンプルに典型的にみられる比率です。このコントロールの定量化サイクル (Cq) データを使用し、野生型と変異型の比率を算出することができます。



製品ラインアップ

quasa Real-time PCR Genotyping kit for EGFR (T790M)

上皮成長因子受容体 (EGFR) は、上皮成長因子ファミリーのメンバーに対する膜貫通タンパク質受容体です。成長因子が受容体に結合すると、受容体の細胞内領域にあるプロテインキナーゼドメインが活性化されます。プロテインキナーゼは、DNA合成と細胞増殖に関するシグナル伝達経路を活性化し、多くの細胞内基質をリン酸化します。

2615位のシトシンからチミンへのヌクレオチド変化により、コドン790のメチオニンがスレオニンに置換されます。この変異は、受容体のキナーゼドメインの一部をコードするエクソン20内で発生します。T790M変異は、肺がん、特に非小細胞肺がんに関連しています。



quasa Real-time PCR Genotyping kit for JAK2 (V617F)

ヤヌスキナーゼ2 (JAK2) は、II型サイトカイン受容体ファミリー (インターフェロン受容体など)、GM-CSF受容体ファミリー (IL-3R、IL-5RおよびGM-CSF-R)、gp130受容体ファミリー (IL-6Rなど)、および単鎖受容体 (Epo-R、Tpo-R、GHR、PRL-Rなど) のシグナリングに関与しています。JAK2遺伝子内の変異は、広範囲の骨髄増殖性疾患に関与しており、TEL (ETV6) (TEL-JAK2) および PCM1遺伝子との融合が白血病患者で発見されています。

この変異 (V617F) により、617位でバリンがフェニルアラニンに変化し、造血細胞がエリスロポエチンやトロンボポエチンなどの成長因子に対してより敏感になります。JAK2 (V617F) の検出は診断上重要であり、この変異の定量化は残存疾患マーカーとしてのモニタリングに有用です。



キット内容物

- 変異型特異的プライマー/プローブミックス (FAM標識)
- 野生型特異的プライマー/プローブミックス (FAM標識)
- Precision® quasa マスターミックス
- ポジティブコントロールテンプレート (1%の変異型を含む)
- テンプレート調製バッファー
- RNase/Dnaseフリー水

製品情報

品名	サイズ	品番
quasa Real-time PCR Genotyping kit for EGFR (T790M)	50反応分	Path-GT-QU-EGFR-T790M
quasa Real-time PCR Genotyping kit for JAK2 (V617F)	50反応分	Path-GT-QU-JAK2-617

フィルジェン 株式会社 

【お問い合わせ】 試薬部

TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389

メール : biosupport@filgen.jp URL : <https://filgen.jp/>

代理店

(Sep.2022)