

TaqMan SCID/SMA Plus Assay

Applied Biosystems™ TaqMan™ SCID/SMA Plus Assay是一种多重实时荧光定量PCR检测试剂盒，可直接使用干血斑(DBS)样品同时筛查重症联合免疫缺陷(SCID)和脊髓性肌萎缩(SMA) 2种疾病。

主要特性

- 优化的SCID和SMA检测
- 直接从DBS提取DNA，缩短手动操作时间
- 兼容96或384孔板反应方案
- 快速循环方案缩短qPCR运行时间(<45分钟)，同时获得高质量结果
- 移液步骤减至最少，易于自动化

背景

SCID和SMA的早期发现和深入研究对预防婴儿永久残疾或死亡至关重要。SCID是一种原发性免疫缺陷疾病，病变特征为功能性T和B细胞缺失，导致细胞和体液免疫降低。可能累及多个基因，因此，将免疫细胞发育过程中产生的游离DNA作为检测标志物(图1)。SMA是一种常染色体隐性遗传疾病，病变特征为脊髓和大脑运动神经元变性，导致进行性肌无力。该疾病由SMN1基因缺陷所致，而该基因主要用于编码运动神经元正常功能所必需的蛋白质(图2)。TaqMan SCID/SMA Plus Assay以DBS样品为起始样品，可同时检测KREC和TREC (用于SCID)以及SMN1 (用于SMA)，并以RNase P作为内参靶标基因。

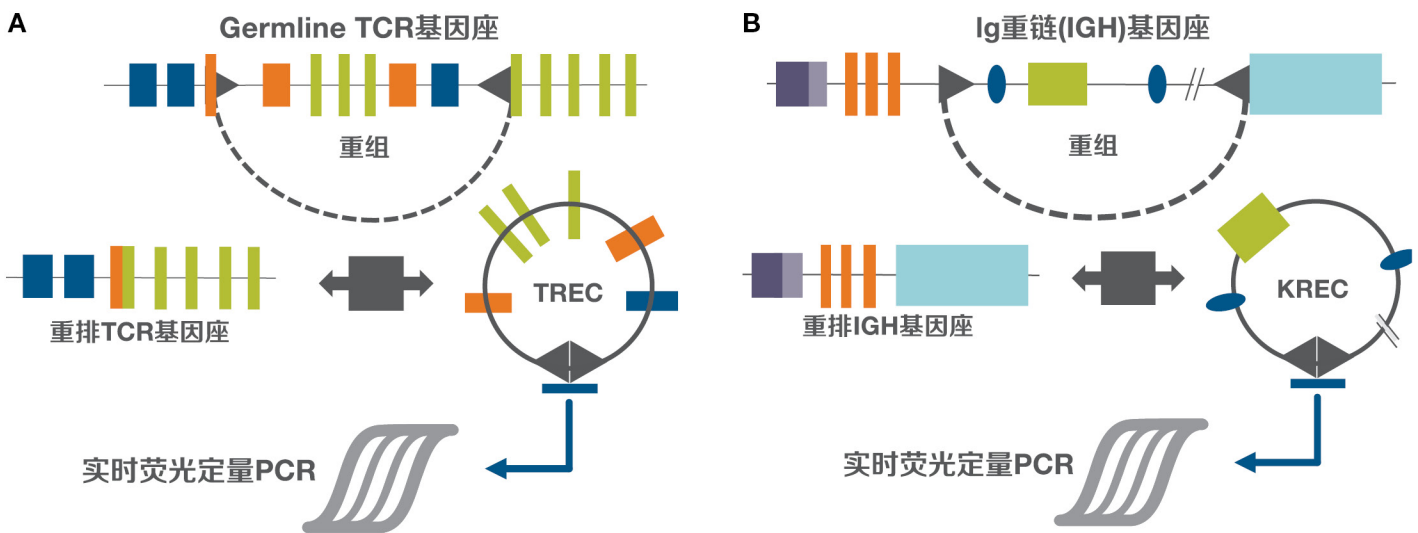


图1. SCID实时荧光定量PCR检测。(A) 在T细胞受体(TCR)基因座重组期间，形成T细胞受体切除环(TREC)。(B) 在B细胞发育过程中，通过Ig重链(IGH)基因座重组，形成Kappa缺失重组切除环(KREC)。SCID涉及的基因突变导致TREC和KREC数量减少，而这可以通过实时荧光定量PCR检测。

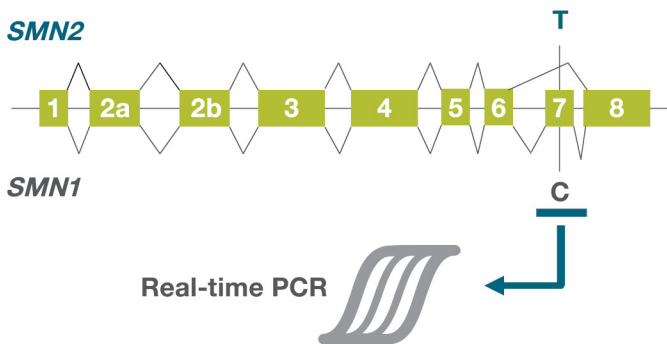


图2. SMA实时荧光定量PCR检测。大多数情况下，SMA是由SMN1基因纯合缺失或转化为其同源基因SMN2所致，产生的功能蛋白数量远远不足。SMN1和SMN2相差五个碱基，包括一个编码碱基对(外显子7 C>T)。因此7号外显子区域可通过real-time PCR方法，检测SMN1缺失或SMN2基因转化。

从DBS样品到结果的完整研究解决方案

TaqMan SCID/SMA Plus Assay适用于检测SMN1、TREC和KREC，以及RNase P基因(作为内参基因)。该试剂包含针对每种靶标的引物和探针混合物以及SMN2阻断剂。DBS样品制备工作流程仅需4步分液移液操作，干燥DBS样品的手动操作时间少于40min，新鲜制备的常规DBS样品少于20min (图3)。其实验方案适用于96孔板和384孔板，是一种可扩展高通量分析方法。需要使用至少含5个滤光片的实时荧光定量PCR仪器来检测报告染料和被动参考染料(表1)。



图3. 样品制备和qPCR反应设置工作流程。每孔使用1.5mm或3.2mm的DBS打孔器。Applied Biosystems™ DNA Extract All Reagents试剂盒内含用于直接处理每孔中DBS样品的裂解液。将从DBS中提取的DNA转移至新板的新孔中。将提取的模板、Applied Biosystems™ TaqPath™ ProAmp™ Multiplex预混液和TaqMan SCID/SMA Plus Assay配置反应体系，然后使用实时Applied Biosystems™ QuantStudio™荧光定量PCR系统运行检测。

表1. 报告染料和推荐仪器。

靶标	报告	被动参考	推荐仪器
SMN1	FAM染料	Mustang Purple染料	QuantStudio 5、6 Flex、7 Flex、Dx (RUO模式), 或12K Flex实时荧光定量PCR系统
TREC	JUN染料		
KREC	ABY染料		
RNase P	VIC染料		

检测结果和性能

TaqMan SCID/SMA Plus Assay是一种多重实时荧光定量PCR检测试剂盒，适用于检测TREC、KREC和SMN1的第7外显子(图4)。内含RNase P基因，用作内部扩增对照，以验证DNA提取是否成功。

为了评估TREC和KREC的检测定量限，最终使用20 μL反应体系分别对每反应40和25拷贝的模板进行了20次重复检测。实验结果表明该试剂的准确定量限为25拷贝(图5)。

此外，该试剂针对SMN1特异性进行了优化，消除了SMN2交叉影响。

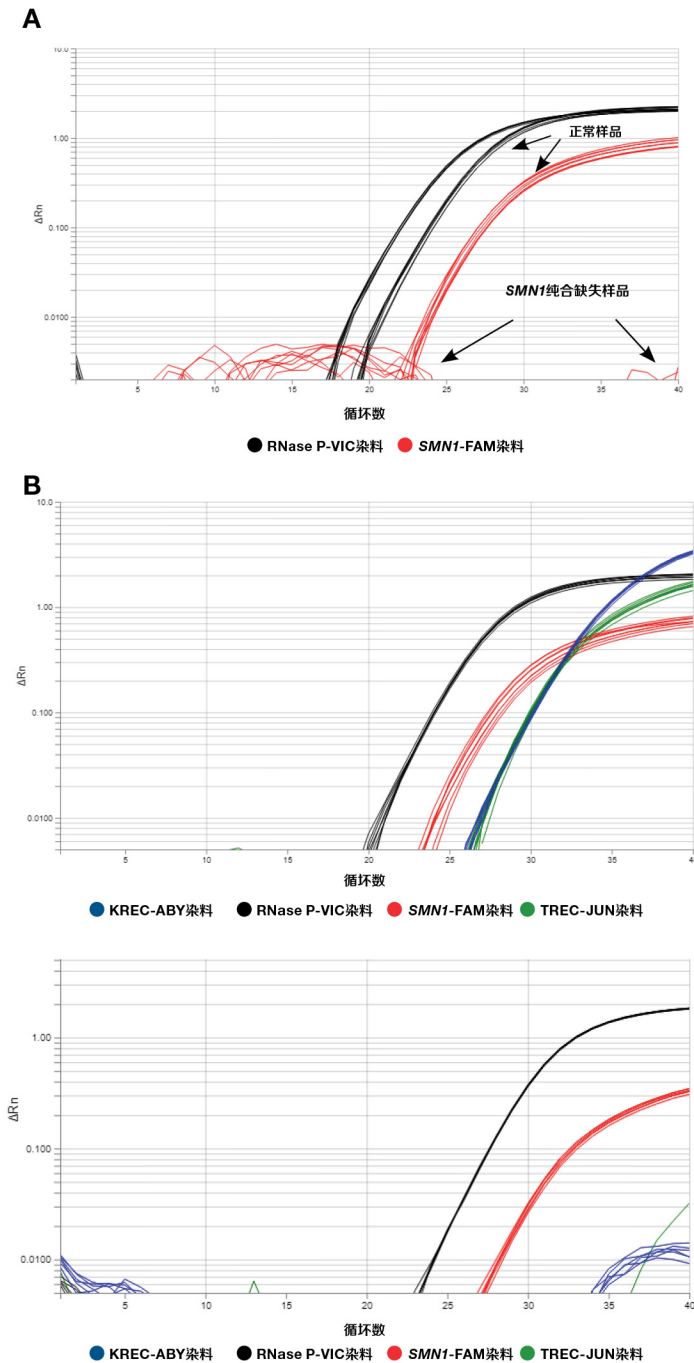
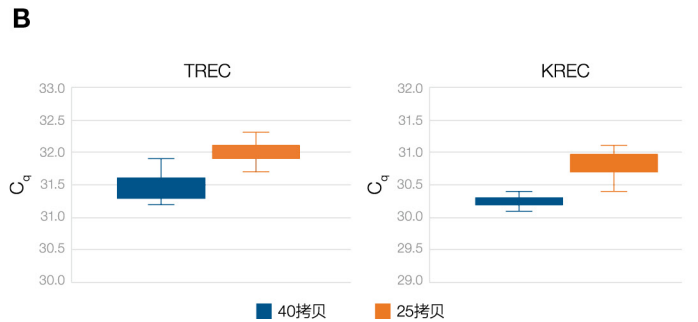
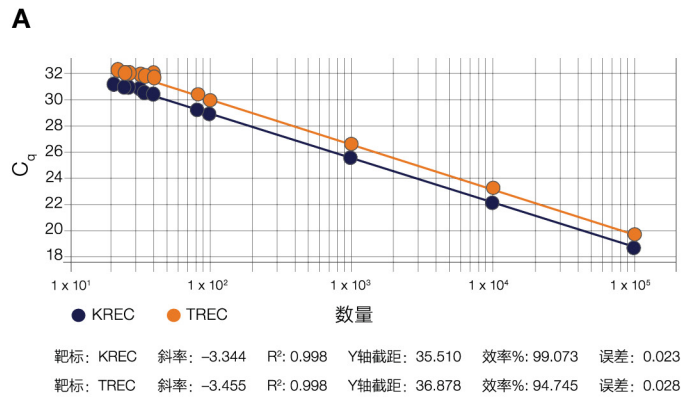


图4. 采用多重TaqMan SCID/SMA Plus Assay检测TREC、KREC和SMN1。(A) 正常样品可以检测出SMN1扩增曲线。而SMN1纯合缺失型样品，SMN1扩增曲线的C_q值不确定，且RNase P的扩增曲线C_q值较正常对照低。(B) 正常样品的TREC和KREC扩增曲线集中出现在相同C_q附近并具有重复性(上图)，而TREC和KREC缺失样品的TREC和KREC C_q值不确定(下图)。



	40拷贝		25拷贝	
靶标	TREC	KREC	TREC	KREC
C _q 平均值	31.5	30.3	32.0	30.8
C _q SD	0.17	0.14	0.14	0.18

图5. 低浓度TREC和KREC的一致性检测。(A) 每个靶标的标准曲线。(B) 箱线图显示了TREC和KREC靶标每反应40和25个拷贝数下，20次重复检测获得的C_q值分布。表格显示了每组重复检测的C_q平均值和标准偏差(SD)。

订购信息

产品	数量	货号
TaqMan SCID/SMA Plus Assay	1,000次反应	A48566
	4,000次反应	A48567
	8,000次反应	A48568
	20,000次反应	A48569
QuantStudio实时荧光定量PCR系统	1台仪器	多种*
现场培训	1天	A48619

* 该检测试剂盒与Applied Biosystems™ QuantStudio™ 5、6 Flex、7 Flex、12K Flex和Dx (RUO模式)系统兼容。

有关其他仪器选项，请访问 thermofisher.cn/quantstudio

有关更多信息，请访问 thermofisher.cn/NBS



赛默飞
官方微信



赛默飞
Applied Biosystems
官方微信

免费 800 820 8982
服务电话 400 820 8982

applied biosystems