

扫一扫



感谢关注获取更多精彩

安徽省合肥市黄山路602号  
0551-63822150  
+8618949874361  
zhienbiology@126.com  
QQ : 2452679220

### 附录

#### 1.JAK/Stat通路描述：

Jak和Stat是许多细胞因子受体系统的重要组成部分；其作用是调节生长、存活、分化以及抗病原性。这些通路的例子之一是IL-6 (或gp130) 受体家族，它可协同调控B细胞分化、浆细胞发生以及急性期反应。细胞因子结合后诱导受体二聚化、激活相关的Jaks，后者则将自身和受体磷酸化。受体和Jaks上的磷酸化位点可充当多种因子的对接位点，例如：含有SH2的Stats (如Stat3)，和含有SH2的蛋白及将受体连接到MAP激酶、PI3K/Akt和其他信号通路的对接蛋白。

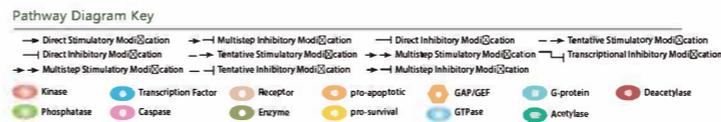
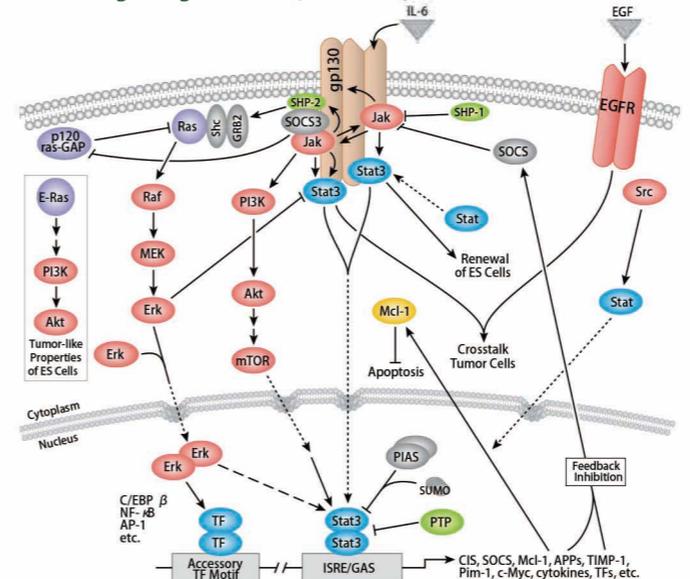
磷酸化的Stats二聚化并转运入胞核，调节靶基因的转录活动。细胞因子信号转导抑制因子 (SOCS) 家族的成员通过同源或异源反馈调节来抑制受体信号转导。如Jak/Stat利用表中所述，Jaks或Stats也可通过其他受体种类参与信号转导。研究者已发现在多种实体肿瘤中Stat3和Stat5可通过除Jaks外的其他酪氨酸激酶持续激活。

Jak/Stat通路介导的细胞因子效应，如红细胞生成素、血小板生成素以及粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)，可作为蛋白药物分别治疗贫血、血小板减少症，以及中性粒细胞减少症。该通路也可以通过干扰素介导信号转导，用作抗病毒和抗肿瘤剂。研究者发现细胞因子信号转导失调可促发癌症。IL-6信号转导异常参与了自身免疫疾病、炎症和部分癌症 (如前列腺癌和多发性骨髓瘤) 的发病机理。目前Jak抑制剂在多发性骨髓瘤模型中进行测试。Stat3可充当一种致癌基因，并在许多肿瘤中持续激活。在某些癌细胞中可见细胞因子信号转导和EGFR家族成员的交互作用。研究发现在EGFR过表达的胶质瘤细胞中Jak2结合到EGFR上的FERM结构域可诱导对EGFR激酶抑制剂的抗性[Sci.Signal. (2013) 6,ra55]。

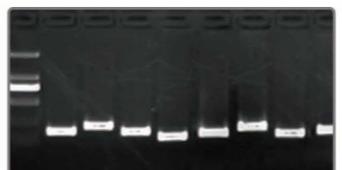
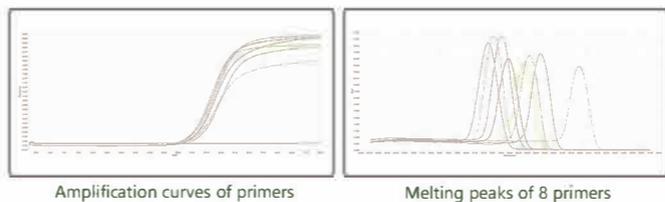
在人类血液恶性肿瘤中，Jak突变激活为主要分子事件。研究者发现在Jak2的假性激酶结构域 (V617F) 中存在唯一的体细胞突变，这多见于真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和特发性骨髓纤维化。这个突变导致Jak2的病理性激活，与此相关的受体包括红细胞生成素、血小板生成素，以及粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)，而这三种因子分别控制红细胞、巨核细胞，以及粒细胞的增殖和分化。研究者还表明，在成人T细胞急性淋巴细胞白血病中发现了Jak1体细胞功能获得性突变。儿童急性淋巴细胞白血病 (ALL) 中也发现了Jak1、Jak2和Jak3体细胞激活突变。此外，在唐氏综合征幼儿B细胞急性淋巴细胞白血病 (B-ALL) 和小儿B-ALL中也检测到假性激酶结构域R683 (R683G或DIREED) 周围存在Jak2突变。

#### 2.JAK/Stat Signal Pathway schematic diagram

##### Jak/Stat Signaling: IL-6 Receptor Family



#### 3.Specific Analysis Of JAK/Stat Signal Pathway PCR Primers



Agarose gel electrophoresis of PCR product

All In One Signal Pathway Detection  
SYBR Green Real Time RT-PCR Superkit 2.0  
(Immunity and inflammation: JAK/Stat Pathway)

## 产品简介

1、产品用途：本试剂盒用于人JAK/Stat细胞信号通路相关研究。

2、本试剂盒包含第一链cDNA合成及逆转录后Real Time RT-PCR所需的各种酶、buffer和特异性引物等各种组分。

3、本产品以提取的总RNA为模板，特别添加了gDNA Remover，在合成第一链cDNA的同时去除RNA模板中基因组来源的DNA残留。逆转录后的cDNA经过稀释后即可使用本试剂盒中包含的2×SYBR Green Mix以及特异性设计的信号通路靶基因荧光定量PCR检测引物进行后续靶基因表达量检测分析。

4、产品特点：本试剂盒特点在于包含JAK/Stat Signal Pathway所有靶基因检测的高特异性荧光定量PCR扩增引物及内参引物，所有引物扩增产物熔解曲线峰图为特异性单峰，电泳条带单一。

产品目录号：ZN-SP711

储存条件：避光，-20℃，保质2年。

本试剂盒提供经过特别优化的反应体系和扩增条件，能够提供极佳的检测特异性和扩增效率，检测范围宽，同时适用于高拷贝及低拷贝基因的检测。

## 试剂盒组成

### 1、第一链cDNA合成组分

Component	ZN-SP711-01	ZN-SP711-02	ZN-SP711-03
Oligo dT Primer (0.5 µg/µL)	10 µL	20 µL	50 µL
Random Primer <sub>6</sub> (0.5 µg/µL)	10 µL	20 µL	50 µL
2×ZN RT Reaction Mix	100 µL	200 µL	500 µL
Script RT/RI znyzyme Mix	10 µL	20 µL	50 µL
gDNA Remove*	10 µL	20 µL	50 µL
DNase/RNase free ddH <sub>2</sub> O	250 µL	500 µL	2 mL

●1\* gDNA Remove特异性水解双链DNA，在逆转录的同时去除基因组DNA，但又不会水解cDNA中的单链DNA。

### 2、PCR组分

Component	ZN-SP711-01	ZN-SP711-02	ZN-SP711-03
2×SYBR Green Premix EX-Taq	2.5 mL	5 mL	12.5 mL
ROX Reference I ( 50× ) <sup>1*</sup>	100 µL	200 µL	500 µL
ROX Reference II ( 50× ) <sup>23*</sup>	100 µL	200 µL	500 µL
DNase/RNase free ddH <sub>2</sub> O	2 mL	4 mL	10 mL

●1\* 为低浓度校正染料，适用于Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real Time PCR System，Agilent MX3000/3005P。

●2\* 为高浓度校正染料，适用于Applied Biosystems 7000/7300/7700/7900/7900Fast/StepOnePlus Real-Time PCR System。

●3\*ROX Reference II浓度为I的50倍，以下机型不反应体系不需要添加ROX Thermal Cycler Dice Real Time System III (CodeNo.TP950/TP970/TP980/TP990) Thermal Cycler Dice Real Time System Lite ( Code No. TP700/TP760 ) Smart Cycler System/Smart Cycler II System ( Cepheid ) LightCycler96/480 System ( Roche ) CFX96 Real-Time PCR System ( Bio-Rad )  
注：不需要添加ROX的机器，试剂盒中不提供该组分。

### 3、JAK/Stat Signal Pathway specific primers

Primers List	ZN-SP711-01	ZN-SP711-02	ZN-SP711-03
JAK2 Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
Stat 1 Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
Stat 3 Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
SOCS1 Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
SOCS3 Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
IL-6 Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
RORyt Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL
Humo GAPDH Primer Mix	30 µL	60 µL	150 µL

## 特别优化的反应体系与条件

### 1、逆转录第一链cDNA合成

Component	Volume	Comment
Total RNA/mRNA <sup>1*</sup>	2-7 µL ( 2~3µg )	50 ng-5 µg
Oligo dT or Random Primer 6(0.5 µg/µL) <sup>2*</sup>	1 µL	可二选一加入
2×ZN RT Reaction Mix	10 µL	
Script RT/RI znyzyme Mix	1 µL	
gDNA Remove	1 µL	
DNase/RNase free ddH <sub>2</sub> O <sup>3*</sup>	to 20 µL	根据RNA浓度调整
<b>Total Volume</b>	<b>20 µL</b>	

●1\* 推荐RNA逆转录量为2~3µg，该逆转录体系可对50 ng-5 µg宽泛范围内的总RNA进行高效逆转录。

●2\* Oligo dT or Random Primer<sub>6</sub>可以任选一种加入，也可以根据实际情况2种组分均加入0.5~1 µL。

●3\* 调整DNase/RNase free ddH<sub>2</sub>O的体积，使体系最终体积为20 µL。

将以上各组分混匀后，置于42 °C水浴锅中孵育30 min，得到第一链cDNA，用DNase/RNase free ddH<sub>2</sub>O适当稀释后（cDNA推荐3~10倍稀释），进行后续 QPCR反应。

对于复杂模板RNA，建议先将模板RNA、逆转录引物、DNase/RNase free ddH<sub>2</sub>O先混合（8 µL），65°C热激5 min，再置于冰上孵育3min，离心后再加入剩余混合体系 2 µL。

### 2、QPCR反应体系：推荐使用20 µL

Component	Volume	Comment
2×SYBR Green Premix EX-Taq	10 µL	
Primer Mix1*	1 µL	10 µmol/L F/R
cDNA	2 µL	
DNase/RNase free ddH <sub>2</sub> O <sup>2*</sup>	7 µL	
<b>Total Volume</b>	<b>20 µL</b>	

●1\* Primer Mix为上游引物F和下游引物R的等体积混合物，浓度均为正常工作浓度10 µM。

●2\* 若使用机器需要添加ROX，则DNase/RNase free ddH<sub>2</sub>O加入6.6 µL。

### 3、QPCR反应条件：推荐使用两步法

QPCR stage	Temperature	Times	Cycles
Preincubation	94 °C	30 s	1
Amplification <sup>1*</sup>	94 °C	5 s	40
	61 °C <sup>2*</sup>	35 s <sup>3*</sup>	
	98 °C	10 s	
Melting	65 °C	60 s	1
	98 °C	10 s	

●1\* 为保证PCR检测的特异性，本产品推荐使用2步法扩增。

●23\* 退火延伸的温度和时间是本试剂盒根据特异性设计靶基因引物的特性，经过优化而设定的，请勿随意更改。

## 注意事项

1、逆转录过程尽量避免RNase污染，所有使用的离心管及吸头都应为RNase-free。

2、尽可能使用高质量的RNA模板，为了提高后期检测质量，逆转录RNA用量尽量不低于500 ng，推荐2~3 µg。

3、当逆转录样本量较多时，推荐先配制除RNA模板及DNase/RNase free ddH<sub>2</sub>O以外的混样，然后再分装至各样本。

4、酶、buffer及各种引物尽可能避免反复冻融，融化后应彻底混匀后再吸取，使用时各组分全程冰盒上操作。

## 声明

本产品仅用于科研，不用于临床诊断

投诉电话：0551-63822150

服务邮箱：zhienbiology@126.com