



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

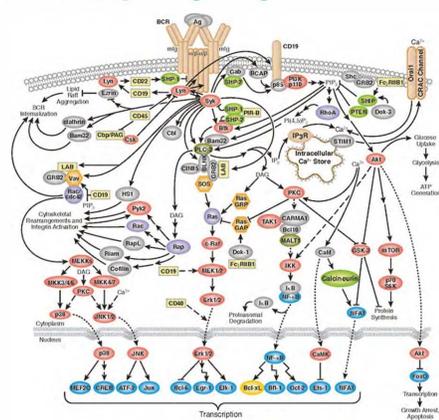
附录

1. BCR通路描述 :

B 细胞抗原受体 (BCR) 由细胞膜免疫球蛋白 (mIg) 分子和相关的 Igα/Igβ (CD79a/CD79b) 异二聚体 (α/β) 组成。mIg 亚单位结合抗原，导致受体聚集，同时 α/β 亚单位将信号转导至细胞内部。BCR 聚集后快速激活 Src 家族激酶 Lyn、Blk 和 Fyn，以及酪氨酸激酶 Syk 和 Btk。这就启动形成一个由 BCR 组成的“信号小体”、上述酪氨酸激酶、连接蛋白（如 CD19 和 BLNK），以及信号转导酶，如 PLCγ2、PI3K 和 Vav。信号小体发出的信号激活多个信号级联放大，其中包括激酶、GTP 酶以及转录因子。这将导致细胞代谢、基因表达和细胞骨架结构的变化。

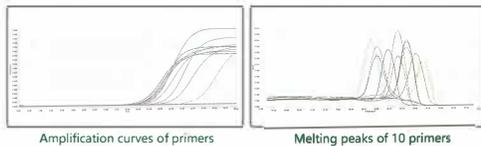
BCR 信号转导的复杂性可导致多个明显不同的结果，包括存活、耐受（无能）或凋亡、增殖，以及分化为抗体生产细胞或记忆 B 细胞。应答的结果由多种因素决定，包括细胞的成熟状态、抗原属性、BCR 信号转导的范围和时长，以及来自其他受体（如 CD40、IL-21 受体和 BAFF-R）的信号。许多其他的跨膜蛋白，其中部分也是受体，可调节 BCR 信号转导的特定部分。其中一些跨膜蛋白包括 CD45、CD19、CD22、PIR-B 和 FcγRIIB1 (CD32)，在此用黄色标记。BCR 信号转导的范围和时长受到负反馈环的限制，负反馈环包括 Lyn/CD22/SHP-1 通路、Cbp/Csk 通路、SHIP、Cbl、Dok-1、Dok-3、FcγRIIB1、PIR-B 和 BCR 的内化。在体内，B 细胞通常由抗原表达细胞捕捉抗原，并在细胞表面暴露后激活。由这种膜相关抗原激活 B 细胞，需要 BCR 诱导的细胞骨架重构

2. BCR Signal Pathway schematic diagram B Cell Receptor Signaling



图片来源: CST

3. Specific Analysis Of BCR 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 : BCR Pathway)

产品简介

1、产品用途：本试剂盒用于人B细胞受体信号通路相关研究。

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BCR 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-SP714

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，能够提供最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-SP714-01	ZN-SP714-02	ZN-SP714-05
Oligo dT Primer (0.5 μg/μL)	10 μL	20 μL	50 μL
Random Primer (0.5 μg/μL)	10 μL	20 μL	50 μL
2×ZN RT Reaction Mix	100 μL	200 μL	500 μL
Script RT/RI zzyme Mix	10 μL	20 μL	50 μL
gDNA Remove*	10 μL	20 μL	50 μL
DNase/RNase free ddH ₂ 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-SP714-01	ZN-SP714-02	ZN-SP714-05
2×SYBR Green Premix EX-Taq	2.5 mL	5 mL	12.5 mL
ROX Reference I (50×) *	100 μL	200 μL	500 μL
ROX Reference II (50×) 2*	100 μL	200 μL	500 μL
DNase/RNase free ddH ₂ 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、BCR Signal Pathway specific primers

(本表尚未完全列出所有可检基因，实际可根据客户需求定制检测基因)

Primers List	ZN-SP714-01	ZN-SP714-02	ZN-SP714-05
Lyn Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
Blk Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
Fyn Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
Syk Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
Btk Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
PLCy2 Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
PI3K Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
Vav Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
SHP-1 Primer Mix	30 μL	60 μL	150 μL
SHP-2 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*	2- 7 μL (2~3μg)	50 ng-5 μg
Oligo dT or Random Primer 6(0.5 μg/μL)2*	1 μL	可二选一加入
2×ZN RT Reaction Mix	10 μL	
Script RT/RI zzyme Mix	1 μL	
gDNA Remove	1 μL	
DNase/RNase free ddH ₂ O3*	to 20 μL	根据RNA浓度调整
Total Volume	20 μL	

●1* 推荐RNA逆转录量为2~3 μg，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 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 ddH₂O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 ℃水浴锅中孵育30 min，得到第一链cDNA，用DNase/RNase free ddH₂O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 ddH₂O先混合（8 μL），65℃热激5 min，再置于冰上孵育3 min，离心后再加入剩余混合体系12 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 ₂ O2*	7 μL	
Total Volume	20 μL	

●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 ddH₂O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 ℃	30 s	1
Amplification*	94 ℃	5 s	40
	61 ℃ 2*	35 s 3*	
	98 ℃	10 s	
Melting	65 ℃	60 s	1
	98 ℃	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均为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 ddH₂O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