

Identificazione del polimorfismo 4845 C/A (A114S) dell'interleuchina-1 α con tecnica real time PCR

AMPLI-set-(IL-1 α) Real Time

Cat.n.1.802RT

Il gene di interleuchina-1 (IL-1) è una citochina pluripotente, cioè in grado di svolgere e regolare molte funzioni immunitarie ed è principalmente coinvolto nell'attivazione delle risposte infiammatorie. L'IL-1 α in particolare è anche rilasciato nel flusso sanguigno esercitando azioni diffuse anche nel corpo. Infatti, è uno dei fattori in grado di indurre febbre, sonno, anoressia e ipotensione. Il polimorfismo presente in posizione 4845 nella regione codificante consiste nella sostituzione di una A (adenina) con una C (citosina), con conseguente sostituzione "missense" di una alanina con una serina. La presenza dell'allele C in combinazione con altri polimorfismi in altri geni aumentano il rischio di sviluppare la sclerosi multipla. Al contrario, nei soggetti con aplotipo AA o AC, la coagulazione del sangue viene indotta in misura molto minore, riducendo così la probabilità di essere esposti al rischio di infarto o ictus.

Il kit permette l'identificazione del polimorfismo C4845A a carico dell'interleuchina 1 alpha mediante la tecnica della Real-time PCR. La ricerca di tale polimorfismo viene eseguita previa amplificazione con primers specifici ed ibridazione con un probe che riconosce una sequenza interna.

Nel kit utilizzato per la rivelazione del polimorfismo C4845A, il probe che riconosce la sequenza wt (allele C) è coniugato al reporter FAM, mentre quello che riconosce la sequenza polimorfica (allele A) è coniugato al reporter VIC/JOE.

Principio del metodo:

A) estrazione del DNA genomico B) amplificazione C) rivelazione mediante l'utilizzo dell'apparecchio Real-Time PCR.

Applicabilità: Su DNA genomico estratto e purificato da sangue intero, **tamponi boccali**.

Numero di reazioni: 24.

CONTENUTO DEL KIT E SUA CONSERVAZIONE

AMPLIFICAZIONE	
PCR mix 2X	-20°C
Primers -Probe mix 20X	-20°C
H ₂ O sterile	-20°C
Controllo WT	-20°C
Controllo Eterozigote	-20°C

Stabilità: superiore a 18 mesi se correttamente conservato

Materiali Richiesti:

tubi da 1,5 ml; portaprovette refrigerato; puntali sterili con barriera antiaerosol; piastra da 96 pozzetti o tubi per Real Time

Reagenti richiesti :

REATTIVI PER L'ESTRAZIONE DI DNA DA SANGUE INTERO o DA TAMPONE

Strumenti richiesti:

Set di pipette pre-PCR e post-PCR

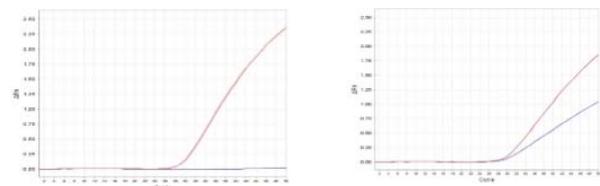
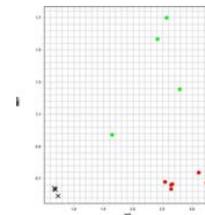
- 1) 0.5 – 10 microlitri
- 2) 5 – 50 microlitri
- 3) 50 – 200 microlitri

Cappa Biohazard classe II; strumentazione real-time PCR.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'analisi dei risultati sarà effettuata dal programma specifico (ALLELIC DISCRIMINATION) dello strumento Real-time PCR precedentemente impostato. In ogni caso, comunque, risulta utile analizzare anche i grafici dell'AMPLIFICATION PLOT, per accertarsi che la reazione sia avvenuta in modo corretto.

Allelic discrimination plot C4845 A



Legenda:

Rosso: allele WT C

Verde: allele mutato A

REFERENZE:

- Mattila (2002) J Med Genet 39, 400;
 Rizzi C (2011) Carcinogenesis. 32,1849-54