

راهنمای کیت AML1-ETO RQ

کیت AML1-ETO RQ جهت تشخیص ناهنجاری کروموزومی یا ترانسلوکاسیون AML1-ETO در خون محیطی و محاسبه درصد رونویسی AML1-ETO در بیماران تحت درمان می باشد. این کیت مخصوص استفاده تحقیقاتی است و برای استفاده با دستگاه RotorGene و StepOne طراحی شده است. / این کیت فاقد مواد لازم برای استخراج RNA یا تهیه cDNA می باشد.

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می باشد:

برچسب	محتوا	حجم
AML1-ETO MIX	میکس آماده برای AML1-ETO	۴۸۰ میکرولیتر
ABL MIX	میکس آماده برای ABL	۴۸۰ میکرولیتر
AE1	استاندارد ۱ AML1-ETO: صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AE2	استاندارد ۲ AML1-ETO: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AE3	استاندارد ۳ AML1-ETO: هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AE4	استاندارد ۴ AML1-ETO: صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AE5	استاندارد ۵ AML1-ETO: ده کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A1	استاندارد ۱ ABL: صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A2	استاندارد ۲ ABL: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A3	استاندارد ۳ ABL: هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A4	استاندارد ۴ ABL: صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
Water	آب مخصوص PCR	۲۰۰ میکرولیتر

تمامی مواد کیت باید در دمای ۱۰ تا ۳۰ درجه زیر صفر نگهداری شوند.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله در دو سری جداگانه روی بلوک سرد بگذارید.

به هر لوله سری اول، ۲۰ میکرولیتر از **AML1-ETO Mix** و به هر لوله سری دوم، ۲۰ میکرولیتر از **ABL Mix** اضافه نمایید. سپس ۵ میکرولیتر از **cDNA** نمونه و یا **استاندارد** و یا **کنترل** به هر لوله اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید. سپس آن ها را مطابق شماره ها داخل دستگاه قرار دهید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene و Step-One از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می توانید دستگاه را مطابق برنامه زیر تنظیم نمایید.

Step	Temperature and time	Cycles
1	95°C x 3 min	1
2	95°C x 15 sec	45
	60°C x 60 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ های FAM و VIC تنظیم شود. ABL Mix و AML1-ETO Mix حاوی ROX می باشند. غلظت نهایی ROX در واکنش 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (Green) مربوط به **AML1-ETO** و افزایش تابش زرد (Yellow) حاصل از **ABL** می باشد.

همچنین نمونه تنها زمانی مثبت در نظر گرفته می شود که دارای منحنی سیگموییدی و فاز لگاریتمی باشد و تنها در این حالت **CT** معتبر بوده و قابل استناد و تفسیر می باشد. در غیاب منحنی سیگموییدی، نمونه منفی محسوب می شود و (**CT آن**) در صورت وجود فاقد ارزش می باشد.

بر اساس نکات بالا نتایج به طور خلاصه در جدول صفحه بعد نشان داده شده اند:

	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	+ (CT 20-30)	Positive
2	-	+ (CT 20-27)	Negative
3	-	-	Invalid
4	-	+ (CT>27)	Invalid



محاسبه درصد AML1-ETO: برای ارزیابی پاسخ درمانی هر بیمار تحت درمان باید میزان درصد رونویسی AML1-ETO بیمار را محاسبه کنید. مبنای این محاسبه روش NCN می‌باشد. (Beillard E. 2003, Leukemia 17:2474).

در این روش نسبت میزان رونویسی AML1-ETO با میزان رونویسی ABL نرمال شده و درصد آن محاسبه می‌شود. به عبارت دیگر تیترا AML1-ETO را به تیترا ABL تقسیم کرده و در ۱۰۰٪ ضرب کنید. نتایج نسبت AML1-ETO/ABL را در خون محیطی بیماران بین ۱۱۰٪ تا ۲۰۰۰٪ با میانگین ۴۲۰٪ نشان می‌دهند.

(Gabert et al., 2003. Leukemia 17:2318)

میزان حساسیت: حساسیت این کیت با استفاده از رقت های متوالی پلاسمید حاوی توالی هدف تعیین شده است و معادل ۲ کپی در میکرولیتر یا ۰/۰۲٪ برای AML1-ETO محاسبه گردید. برای دستیابی به این میزان حساسیت نمونه cDNA باید حاوی ده هزار نسخه از mRNA ژن ABL در هر میکرولیتر باشد.

توضیحات برچسب:

دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید		تولید کننده		جهت مصارف پژوهشی	RUO
تاریخ انقضاء		تعداد <n> آزمون کافی		کدبهر (شماره بچ)	LOT
محدوده دمایی	 -30°C / -10°C	شماره سریال	SN	شماره کاتالوگ	REF

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت‌های نوین ژن، دریافت فایل کامل دفترچه راهنمای کیت و فایل تمپلیت برای تنظیم دستگاه و آشنایی با نمایندگان فروش، به وبسایت ما به نشانی www.novingene.com مراجعه فرمایید یا QR Code موجود بر روی جعبه کیت را اسکن نمایید. جهت کسب اطلاعات بیشتر با پشتیبانی فنی تماس بگیرید.