

راهنمای کیت ETV6-RUNX1 RQ

کیت ETV6-RUNX1 (TEL-AML1) RQ جهت تشخیص ناهنجاری کروموزومی یا ترانسلوکاسیون ETV6-RUNX1 (TEL-AML1) در نمونه بیمار و محاسبه درصد ETV6-RUNX1 در بیماران تحت درمان می‌باشد. این کیت مخصوص استفاده تحقیقاتی است و جهت استفاده با دستگاه‌های RotorGene، StepOne، و MIC طراحی شده است. همچنین توجه داشته باشید این کیت فاقد مواد لازم برای استخراج RNA یا تهیه cDNA می‌باشد!

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می‌باشد:

برچسب	محتوا	حجم
ETV6-RUNX1 MIX	میکس آماده برای ETV6-RUNX1*	۴۸۰ میکرولیتر
ABL MIX	میکس آماده برای ABL *	۴۸۰ میکرولیتر
ER1	استاندارد ۱ ETV6-RUNX1: صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
ER2	استاندارد ۲ ETV6-RUNX1: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
ER3	استاندارد ۳ ETV6-RUNX1: هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
ER4	استاندارد ۴ ETV6-RUNX1: صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
ER5	استاندارد ۵ ETV6-RUNX1: 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.

cDNA: در حدود یک میکروگرم total RNA برای این تست مورد نیاز می باشد که باید با استفاده از Random Hexamers یا پرایمرهای اختصاصی به cDNA تبدیل شود. در صورت درخواست، پرایمرهای اختصاصی همراه با کیت در اختیار شما قرار می گیرد. پس از تهیه cDNA آن را با آب، دو و نیم برابر رقیق کنید. یعنی به طور مثال به ۲۰ میکرولیتر cDNA مقدار ۳۰ میکرولیتر آب (آب بدون نوکلئاز یا آب مخصوص PCR) اضافه کنید.

روش استفاده: هر نمونه از نظر وجود mRNA برای دو ژن ETV6-RUNX1 و ABL باید بررسی شود. به این منظور دو آزمایش PCR در دو سری لوله های جداگانه باید انجام شود. در سری اول برای بررسی ETV6-RUNX1 علاوه بر یک لوله برای نمونه هر بیمار، پنج لوله برای استانداردها (ER1-5) و یک لوله برای شاهد منفی (NTC) در نظر بگیرید. در سری دوم و برای بررسی ABL علاوه بر یک لوله برای نمونه هر بیمار، چهار لوله نیز برای استانداردها (A1-4) و یک لوله برای شاهد منفی در نظر بگیرید. تعداد مورد نیاز لوله در دو سری جداگانه روی بلوک سرد بگذارید. **به هر لوله سری اول، ۲۰ میکرولیتر از ETV6-RNX1 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 یا StepOne 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. ETV6-RUNX1 Mix و ABL Mix موجود در کیت حاوی ROX می باشد. غلظت نهایی ROX در واکنش 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (Green) مربوط به ETV6-RUNX1 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 زیر نشان داده شده اند:

	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+ (CT 20-40)	+ (CT 20-30)	Positive
2	-	+ (CT 20-27)	Negative
3	-	-	Invalid
4	-	+ (CT>27)	Invalid

محاسبه ETV6-RUNX1 %: برای ارزیابی پاسخ درمانی هر بیمار تحت درمان باید میزان ETV6-RUNX1 % بیمار را محاسبه کنید. مبنای این محاسبه روش NCN می باشد (Beillard E. 2003, Leukemia 17:2474). در این روش نسبت میزان رونویسی ETV6-RUNX1 با میزان رونویسی ABL نرمال شده و درصد آن محاسبه می شود. به عبارت دیگر تیتراژ ETV6-RUNX1 را به تیتراژ ABL تقسیم کرده و در ۱۰۰٪ ضرب کنید. نتایج نسبت ETV6-RUNX1/ABL را در خون محیطی بیماران B-ALL بین ۲۰٪ تا ۱۵۲۰٪ با میانگین ۴۷۱٪ نشان می دهند (Gabert (2003 Leukemia 17:2318

NG-WI-ASL-29-102-S

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 ETV6-RUNX1 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	 10°C -30°C	شماره سریال	SN	شماره کاتالوگ	REF

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت های 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.