

# راهنمای کیت mbcR 190 RQ

کیت mbcR 190 RQ به منظور تشخیص ناهنجاری کروموزومی یا ترانسلوکاسیون BCR-ABL (p190, e1a2) در نمونه و محاسبه درصد BCR-ABL در بیماران تحت درمان می‌باشد. این کیت جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne، و MIC جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است. 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 می باشد:

برچسب	محتوا	حجم
mbcr 190 Mix	میکس آماده برای mbcR	۴۸۰ میکرولیتر
ABL Mix	میکس آماده برای ABL	۴۸۰ میکرولیتر
m1	استاندارد mbcR1: صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
m2	استاندارد mbcR2: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
m3	استاندارد mbcR3: یک هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
m4	استاندارد mbcR4: یک صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
m5	استاندارد mbcR5: ده کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A1	استاندارد ABL1: یک صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A2	استاندارد ABL2: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A3	استاندارد ABL3: یک هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
A4	استاندارد ABL4: یک 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.

**تهیه cDNA:** در حدود یک میکروگرم total RNA برای این تست مورد نیاز می‌باشد که باید با استفاده از Random Hexamers به cDNA تبدیل شود. کیت های متعددی برای این کار در دسترس می باشند.

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 BCR-ABL (p190) 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 BCR-ABL علاوه بر یک لوله برای نمونه هر بیمار، پنج لوله برای استانداردها (m1-5) و یک لوله برای شاهد منفی یا 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 یا NTC در نظر بگیرید. تعداد مورد نیاز لوله PCR یا استریپ در دو سری مجزا از هم روی بلوک آلومینیوم (با دمای صفر تا ۴ درجه سانتیگراد) بگذارید.

به هر لوله سری اول ۲۰ میکرولیتر از **mbcr 190 MIX** و به هر لوله سری دوم ۲۰ میکرولیتر از **ABL MIX** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **cDNA** نمونه و یا **استاندارد و یا کنترل** به هر لوله اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید. 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. mbcR Mix و ABL Mix موجود در کیت حاوی ROX می باشند. غلظت نهایی ROX در واکنش 300nM می باشد.

**آنالیز نتایج:** توجه داشته باشید که افزایش افزایش **تابش سبز (Green)** مربوط به **BCR-ABL** 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	+	+	Positive
	(CT 20-40)	(CT 20-30)	
2	-	+	Negative
		(CT 20-27)	
3	-	-	invalid
4	-	+	Invalid
		(CT>27)	

## محاسبه %BCR-ABL

برای ارزیابی پاسخ درمانی هر بیمار تحت درمان باید میزان %BCR-ABL بیمار را محاسبه کنید. مبنای این محاسبه روش NCN می باشد. (Beillard E. 2003, Leukemia 17:2474).

در این روش نسبت میزان بیان BCR-ABL با میزان بیان ABL نرمال شده و درصد آن محاسبه می شود. به عبارت دیگر تیترا BCR-ABL را به تیترا ABL تقسیم کرده و در ۱۰۰ ضرب کنید.

## 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	شماره سریال	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](http://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.