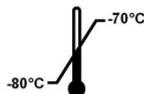


PhilaREF

RNA referenční materiál pro kvantifikaci BCR/ABL P210 translokací (Transcript M-bcr)



OBSAH

Použití	Str. 1
Popis výrobku	Str. 1
Technologická specifikace	Str. 2
Reagencie dodávané	Str. 2
Další vybavení/ potřebné reagensy	Str. 2
Varování a upozornění	Str. 2
Návod k použití	Str. 3
Odkazy a symboly	Str. 4

POUŽITÍ

Výrobek **PhilaREF** je *in vitro* zdravotnický prostředek pro:

- ☒ Vyhodnocení výsledků kvantitativního testu pro detekci BCR / ABL P210 transkriptu (BCR-ABL P210, Mbc), normalizovaného na ABL transkript;
- ☒ Výpočet konverzního faktoru (CF) nezbytného k vyjádření konečných kvantifikačních údajů BCR / ABL P210 v mezinárodní stupnici (IS).

POPIS VÝROBKU

Výrobek **PhilaREF** obsahuje celkovou RNA extrahovanou ze série buněčných směsí, které umožňují kvantifikovat transkript BCR / ABL P210 a ABL pomocí PCR v reálném čase.

Systém umožňuje vypočítat teoretický konverzní faktor, který je nezbytný pro standardizaci kvantifikace testu BCR / ABL v případech chronické myeloidní leukémie (CML), akutní myeloidní leukémie (AML) a akutní lymfoblastické leukémie (ALL) a dále sledování minimálních reziduí nemoci (MRD).

REFERENČNÍ TITR PhilaREF, stanovený pro každou šarži produktu a uvedený v informaci dodané s každým výrobkem, vychází z kalibrace, v níž byl použit „1. genetický referenční panel světové zdravotnické organizace (WHO) pro kvantifikaci translokace BCR-ABL pomocí RQ-PCR“ (NIBSC, UK cod: 09/138) podle pokynů k použití poskytnutých NIBSC a v souladu s HE White et al. Blood 116: 111-117, 2010.

Výrobek PhilaREF je směs celkové RNA obsahující transkripty BCR / ABL v různých poměrech, které lze přímo použít pro reverzní transkripci a amplifikaci cDNA kvantitativním systémem v laboratoři.

Výrobek obsahuje čtyři zkumavky celkové RNA extrahované ze směsi dvou lidských buněčných linií v různých poměrech. Každý roztok byl získán zředěním známého množství buněk pozitivních na translokaci t (9; 22), BCR-ABL přesmyk, varianta P210, se známým množstvím buněk, které tuto translokaci nemají. Každá zkumavka **se známým titrem** obsahuje 30 µl celkové RNA v koncentraci 400 ng / µl **připravené k použití**.

TECHNOLOGICKÁ SPECIFIKACE

Výrobek obsahuje:

- **6 analytických sérií** s použitím produktu SensiQuant P210 MasterMix. Každá série zahrnuje dvě jednostupňové RT PCR reakce pro BCR / ABL P210 a dvě reakce pro ABL pro každý vzorek. Každá reakce se provede s 500 ng RNA. V tomto případě bude nutné uvést RNA do koncentrace 100 ng / μ l a poté za použití 5 μ l v reakci (což odpovídá 500 ng celkové RNA).
- **12 analytických sérií** s použitím produktu SensiQuant P210 MasterMix. Každá série zahrnuje dvě jednostupňové RT PCR reakce pro BCR / ABL P210 a dvě reakce pro ABL pro každý vzorek. Každá reakce bude prováděna s 250 ng RNA. V tomto případě bude nutné uvést RNA do koncentrace 50 ng / μ l a poté za použití 5 μ l v reakci (což odpovídá 250 ng celkové RNA).
- **12 analytických sérií**, při použití například dvoukrokových metod, kde lze pro každou sérii reverzní transkripce použít 2,5 μ l každého ředícího bodu PhilaREF (což odpovídá 1 μ g celkové RNA).

DODÁVANÉ REAGENCIE

REAGENT	QUANTITY	COMPOSITION
PhilaREF 10	1 x 30 μ l	400 ng/ μ l of total RNA from mixture containing: 10% Ph+ cells 90% Ph- cells
PhilaREF 1	1 x 30 μ l	400 ng/ μ l of total RNA from mixture containing: 1% Ph+ cells 99% Ph- cells
PhilaREF 01	1 x 30 μ l	400 ng/ μ l of total RNA from mixture containing: 0.1% Ph+ cells 99.9% Ph- cells
PhilaREF 001	1 x 30 μ l	400 ng/ μ l of total RNA from mixture containing: 0.01% Ph+ cells 99.99% Ph- cells
Acqua Ultrapura/ Ultrapure Water	1 x 500 μ l	Ultrapure Water for Molecular Biology

DALŠÍ POTŘEBNÉ VYBAVENÍ A REAGENCIE

- Laminární box .
- Jednorázové latexové rukavice bez pudru nebo podobné
- Vortex mixér.
- Mikrocentrifuga (12 000/14 000 RPM).
- Sterilní mikropipety a špičky s aerosolovým filtrem nebo podobné (0,5-10 μ l, 2-20 μ l, 5-50 μ l, 50-200 μ l, 200-1000 μ l).

- Sterilní bidestilovaná voda
- Reagencie pro reverzní transkripci RNA.
- Amplifikační testy nukleových kyselin pro amplifikaci a detekci cDNA přesmyku BCR-ABL, t (9; 22) translokace, varianta P210 a její kvantifikace normalizované ve srovnáním s cDNA genu ABL.
- Přílnavé uzavírání pro mikrotitrační destičky bez RNázy a DNázy.
- Přístroj pro Real-Time PCR.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

Tento výrobek je určen výhradně pro použití *in vitro*. Činidla a pokyny dodávané v této soupravě byly validovány pro optimální výkon. Další ředění reagentů nebo změna inkubačních teplot může vést k chybným nebo nesouhlasným údajům. Rozdíly ve zpracování vzorků a technických postupech v uživatelské laboratoři mohou způsobit neplatnost výsledků testu.

Zvláštní upozornění pro manipulaci:

Postupy molekulární biologie, jako je extrakce, reverzní transkripce, amplifikace a detekce nukleových kyselin, vyžadují kvalifikovaný personál, aby se předešlo riziku chybných výsledků.

Extrémní opatrnosti předcházejte:

- Kontaminaci RNázy / DNázy, které by mohly způsobit degradaci templátové mRNA a generované cDNA;
- Kontaminaci přenášené mRNA nebo PCR vede k falešně pozitivnímu signálu.

Doporučujeme proto následující:

- Používejte oddělené oblasti pro extrakci/přípravu amplifikačních reakcí a pro amplifikaci/detekci amplifikačních produktů. Nikdy nepřenášejte produkty amplifikace do oblasti určené pro extrakci/přípravu amplifikačních reakcí;
- Používejte laboratorní pláště, rukavice a nástroje, které se používají výhradně pro extrakci/přípravu amplifikačních reakcí a pro amplifikaci / detekci amplifikačních produktů. Nikdy nepřenášejte laboratorní pláště, rukavice nebo nástroje z oblasti určené pro amplifikaci/detekci produktů amplifikace do oblasti určené pro extrakci/přípravu.
- Se vzorky manipulujte v laminárním boxu. Vzorky musí být použity výhradně pro tento typ analýzy;
- vyvarujte se současného otevírání zkumavek obsahujících různé vzorky;
- Pro všechny pipetovací kroky a pipety používejte nové špičky odolné vůči aerosolům. Použité špičky musí být sterilní, bez DNáz a RNáz, bez DNA a RNA. Pipety

používané ke zpracování vzorků musí být použity výhradně pro tento konkrétní účel;

- S činidly manipulujte v laminárním boxu. Činidla nezbytná pro amplifikaci musí být připravena tak, aby mohla být použita v jedné sérii. Pipety používané k manipulaci s činidly musí být použity výhradně pro tento účel. Pipety musí být pozitivního výtlačku nebo musí být použity s hroty aerosolového filtru. Použité špičky musí být sterilní, bez DNáz a RNáz, bez DNA a RNA;
- Manipulujte s produkty amplifikace takovým způsobem, aby se co nejvíce omezilo rozptýlování do prostředí, aby se zabránilo možné kontaminaci. Pipety používané k manipulaci s produkty amplifikace musí být použity výhradně pro tento konkrétní účel.

Varování a obecná bezpečnostní opatření:

- S lidskými tkáněmi je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními, a musí být likvidovány s náležitými preventivními opatřeními a v souladu s pokyny OSHA a / nebo CAP (nebo ekvivalentními EU).
- Vyvarujte se přímého kontaktu s biologickými vzorky. Vyvarujte se rozstříkávání nebo rozprašování. Materiály, které přicházejí do styku s biologickými vzorky, musí být před likvidací ošetřeny 3% chlornanem sodným po dobu nejméně 30 minut nebo autoklávovány při 121 ° C po dobu jedné hodiny;
- Zacházejte a likvidujte všechna činidla a všechny testovaný materiál, jako by byl potenciálně infekční. Vyvarujte se přímého kontaktu s reagensy. Vyvarujte se rozstříkávání nebo rozprašování. S odpadem je třeba zacházet a likvidovat v souladu s příslušnými bezpečnostními normami. Jednorázové hořlavé materiály musí být spáleny. Kapalný odpad obsahující kyseliny nebo zásady musí být před likvidací neutralizován;
- Používejte vhodný ochranný oděv a rukavice a chraňte oči / obličej. Další informace naleznete v bezpečnostním listu (MSDS).
- Nikdy pipetujte roztoky ústy a vyhýbejte se kontaktu s kůží a sliznicemi.
- Na pracovišti nejezte, nepijte, nekuřte ani neaplikujte kosmetické výrobky.
- Po manipulaci se vzorky a reagensy si důkladně umyjte ruce.
- Zbytková činidla a odpad zlikvidujte v souladu s platnými předpisy.
- Před spuštěním testu si přečtěte všechny pokyny dodané s výrobkem.
- Při provádění testu postupujte podle pokynů dodaných s výrobkem.
- Nepoužívejte produkt po uplynutí doby použitelnosti.
- Nemíchejte činidla z různých šarží.

Varování a bezpečnostní opatření týkající se jednotlivých součástí:

Pro výrobek **PhilaREF** platí následující bezpečnostní pokyny (P):

P261. Vyvarujte se vdechnutí prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/spreje.

P262. Zabraňte vniknutí do očí, na kůži nebo na oděv.

NÁVOD K POUŽITÍ

Souprava **PhilaREF** obsahuje ready-to-use celkovou RNA referenci, takže ji jednoduše přidejte do reakční směsi. Doporučuje se testovat v duplikátech každou ze čtyř koncentrací RNA pro kontrolní gen ABL a cílový gen BCR / ABL P210.

DŮLEŽITÉ!

Zkumavky PhilaREF nesmí být zmrazeny a rozmrazeny více než dvakrát. Další cykly zmrazení a rozmrazení mohou způsobit snížení titru. Proto se doporučuje alikvotovat RNA během prvního rozmrazení, před opětovným zmrazením.

Například 5 µl alikvoty stačí pro jeden analytický běh, s použitím 500 ng na reakci produktu, ve spojení s SensiQuant P210 MasterMix (viz „Technologická specifikace“, strana 2).

Například 2,5 µl alikvoty budou stačit pro jeden analytický běh, s použitím 250 ng na reakci produktu, ve spojení s SensiQuant P210 MasterMix (viz „Technologická specifikace“, strana 2).

DŮLEŽITÉ!**Skladování:**

Soupravu **PhilaREF** skladujte při -70 ° C až -80 ° C v mrazničce při konstantní teplotě.

Všechny složky soupravy skladujte v originálních obalech. Před otevřením zkumavky jemně promíchejte a zkumavky odstředte. Tyto podmínky skladování platí pro otevřené komponenty i pro dosud neotevřené. Složky skladované za jiných podmínek, než jaké jsou uvedeny na štítku, nemusí pracovat správně mohou negativně ovlivnit výsledky testů.

Poznámka: Nezmrazujte a nerozmrazujte reagentie RNA PhilaREF více než dvakrát. Další cykly zmrazování a rozmrazování by mohly způsobit snížení titru. Proto se doporučuje materiál rozdělit po prvním rozmrazení na alikvoty

ODKAZY A SYMBOLY

- J. Gabert et al. (2003) *Leukemia* 17: 2318-57
 S. Branford et al., (2006) *Leukemia* 20(11):1925-30
 M. Baccarani et al. (2006) *Blood* 15; 108 (6): 1809-20
 S. Branford et al. (2008) *Blood* 112: 3330-38
 M.C. Muller et al. (2009) *Leukemia* 23: 1957-63
 N. Cross et al. (2009) *Best Pract Res Clin Haematol.* 22(3): 355-65
 H.E. White et al. (2010) *Blood* 116: 111-17



Katalogové číslo



Skladujte při/ omezení teploty



Šarže



Použitelné do



Tento výrobek splňuje požadavky Evropské Direktivy 98/79/EC



Pro *in vitro* diagnostické použití



Obsah stačí pro <n> testů



Upozornění / Pozor



Výrobce

Distribuce:

ASCO-MED, spol. s.r.o.

Pod Cihelnou 6/664, 161 00 Praha 6

tel: (+420) 233 313 578

www.ascomed.cz

asco@ascomed.cz

Mgr. Irena Šejbová

Mobil: 602 653 640

Irena.sejbova@asomed.cz