

ویژگی‌های آنالیتیکال و پایداری کیت

اختصاصیت آنالیتیکال: کیت RealSure SMA Dtek™ با اختصاصیت بسیار بالا ۱۸ SMN1 را تشخیص کرده و به همولوگ آن یعنی SMN2 متصل نمی‌شود. این موضوع با بررسی حدود ۵۰ نمونه‌ی بیمار که تعداد نسخه‌های SMN2 در آن‌ها غیر صفر است تأیید شده است. در هیچ کدام از نمونه‌های ذکر شده در کانال سبز (SMN1) Ct گزارش نشده است.

حساسیت آنالیتیکال: علاوه بر اختصاصیت، این کیت حساسیت نسبتاً بالایی داشته و با حداقل ۶ نانوگرم DNA الگو (LOD) قادر است تعداد نسخه‌های ۱۸ SMN1 را تعیین کند. با این وجود استفاده از حداقل مقدار DNA پیشنهاد نمی‌شود و توصیه می‌شود رقت DNA برای کاهش خطای کیت و آنالیز داده‌ها بین ۵۰ تا ۱۵۰ نانوگرم در هر واکنش تنظیم شود. صحت (trueness) کیت: انجام تست روی ۲۹۹ نمونه با دو لات نامبر و مقایسه با نتایج کیت MLPA برای این نمونه‌ها نشان داده است که این کیت با حساسیت بالینی ۹۹.۵۷٪ و اختصاصیت بالینی ۹۸.۹۱٪ قادر است ناقلین بیماری SMA را از افراد سالم تمیز دهد.

دقت کیت: دقت محصول به دو روش قابلیت تکرارپذیری و تولید مجدد بررسی شده است. کمتر بودن انحراف معیار Ct تکرارها از ۰/۵ نشان داد که تست قابلیت تکرارپذیری دارد و یکسان بودن نتایج تست در دو روز با دو شماره ساخت متفاوت و دو کاربر نشان داد که کیت قابلیت تولید مجدد دارد.

پایداری کیت: با توجه به تست‌های پایداری تسریع شده این کیت تا مدت دو سال می‌تواند عملکرد خود را به خوبی حفظ کند.

محدودیت‌های محصول

- کیفیت DNA در عملکرد این کیت تأثیر زیادی دارد. در صورت استفاده از DNA با کیفیت و یا غلظت پائین احتمال نتیجه‌ی مثبت کاذب افزایش می‌یابد.
- این کیت بر روی DNA استخراج شده از خون بهینه شده و در صورت استفاده از نمونه‌های دیگر مثل بزاق، DBC، مایع آمنیون و... تضمینی برای تشخیص صحیح وجود ندارد.
- افراد که واجد متواسین نقطه‌ای باشند و همچنین افرادی که واجد دو نسخه از ۱۸ SMN1 بر روی یک کروموزوم و فاقد ۱۸ نسخه در کروموزوم دیگر یا به اصطلاح همزمان واجد حذف و اضافه شدگی باشند توسط این کیت ناقل تشخیص داده نمی‌شوند.

روش انبارش و انتقال محصول

۱. به دلیل وجود پروب‌های فلورسنت، این کیت باید در محیطی نگهداری شود که در معرض نور قرار نداشته نباشد.
۲. این کیت در دمای ۲-۲۰°C به مدت حداقل ۱۸ ماه قابل نگهداری می‌باشد.
۳. چنانچه دفعات انجماد و ذوب این کیت زیاد باشد، کیفیت نتایج کاهش خواهد یافت. بنابراین بهتر است مواد را در حجم‌های کمتر تقسیم کرده و نگهداری نمایید.

مواد و تجهیزات لازم برای انجام تست

- دستکش یکبار مصرف
- رکت، تیپ و میکروتیوب استریل مناسب با دستگاه
- میکرواسپین و ورتکس مناسب برای میکروتیوب
- میکروپیپت مناسب برای حجم‌های مورد نظر
- دستگاه Real-time PCR

هشدارها و اقدامات احتیاطی

- تکنسین آزمایشگاه یا فردی که فرایند استخراج DNA و آماده سازی واکنش PCR را انجام می‌دهد، باید قبل از شروع کار برای جلوگیری از اثرات زیان‌بار مواد شیمیایی، دستورالعمل (MSDS) هر یک از موارد ذکر شده را مطالعه نماید.
- تماس با مواد شیمیایی را کم کنید. برای جلوگیری از بروز آلودگی، از روپوش آزمایشگاه، عینک ایمنی و دستکش یکبار مصرف مخصوص استفاده نمایید.
- به دلیل احتمال آلودگی، به هیچ وجه تیوب‌های محصولات PCR را در محلی که اجزاء کیت قرار دارند باز نکنید.



RealSure SMA Dtek™ Kit

کیت Real-time PCR برای تشخیص سریع ناقلین SMA

Cat. No. : 110408

معرفی و هدف محصول

SMA شایع‌ترین اختلال عصبی عضلانی است که نوزادان و کودکان خردسال را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تخمین زده می‌شود که فراوانی ناقلین این بیماری می‌تواند به ۱ در هر ۲۵ مورد برسد، اگر چه برآورد جهانی یک در ۶۰-۴۰ مورد است. SMA در اثر جهش در ۱۸ SMN1 واقع در ۵q کروموزوم ۵ ایجاد می‌شود. انواع جهش‌های SMN1 در بیماری نقش دارند، اما غالب‌ترین آن‌ها حذف ۷ یا حذف ۷ است که ۹۷٪ ناقلین بیماری را شامل می‌شود. کیت RealSure SMA Dtek™، تشخیص حذف ۷ و ۸ را در SMN1 در یک واکنش چندگانه برپایه‌ی TaqMan امکان پذیر می‌سازد. در نتیجه، بیش از ۹۷٪ از حامل‌ها را می‌توان با استفاده از کیت RealSure SMA Dtek™ دقت بالایی شناسایی کرد. این روش در مقایسه با روش‌های معمول غربالگری شماره کپی مانند MLPA یا PCR/CE، ارزان‌تر، بسیار سریع‌تر و قابل اعتمادتر است و به تجهیزات گران قیمتی نیاز ندارد. تفسیر نتیجه نیز سریع و آسان است.

اصول آزمون

Real-time PCR یکی از پرکاربردترین روش‌های تعیین مقدار ۱۸ است. این روش برخلاف PCR هیچ گونه نیازی به پردازش پس از تشخیص ندارد و در مدت زمان بسیار کوتاهی با استفاده از شدت فلورسانس (که رابطه‌ی مستقیم با غلظت اولیه DNA دارد)، وجود یا عدم وجود توالی مورد نظر و همچنین مقدار آن را نشان می‌دهد. بنابراین تشخیص و آنالیز DNA در یک مرحله داخل دستگاه انجام می‌شود. این روش نسبت به PCR حساسیت بالاتری داشته و به طور معمول برای تشخیص وجود پاتوژن در نمونه به کار می‌رود. همچنین یکی از مهم‌ترین کاربردهای آن آنالیز میزان بیان ژن بوده است. این کیت از قابلیت‌های این روش به جهت تعیین تعداد نسخ ۱۸ SMN1 استفاده می‌کند.

مشخصات و محتویات محصول

کیت RealSure SMA Dtek™ شامل یک پاکس و حاوی مواد لازم برای Real-time PCR است که در جدول ۱ لیست شده‌اند.

جدول ۱ - اجزای کیت RealSure SMA Dtek™

Tube Label	Tube cap color
PCR Mix	●
Primer Mix	●
HS Taq DNA Polymerase	●
Control DNA SMA-N (Normal Control DNA-50ng/μL)	●
Control DNA SMA-C (Carrier Control DNA-50ng/μL)	●
Control DNA SMA-A (Affected Control DNA-50ng/μL)	●
KBC H2O	●

جدول ۳- برنامه PCR

Initial Step	95°C	20 min	30 Cycles	Taqman assay	
Denaturation	95°C	10 sec		Target	Fluorescent channel
Annealing	59°C	10 sec		SMN1	FAM
Extension	72°C	20 sec		IC	HEX

تفسیر نتایج

نرم افزار SMAware ساخته شده توسط شرکت زیست فناوری کوثر به همراه کیت ارائه می شود. نتایج واکنش Real-Time PCR را در اکسل استاندارد نتایج قرار داده و فایل اکسل را در نرم افزار SMAware باز نمایید. ضروری است که مقادیر C_t مربوط به کنترل سالم، ناقل و بیمار را در نرم افزار وارد نموده تا امکان باز کردن اکسل استاندارد در نرم افزار وجود داشته باشد. همچنین **مطمئن شوید که قفل فیزیکی نرم افزار به پورت USB کامپیوتر شما متصل باشد.**

برای دریافت دفترچه راهنمای نرم افزار و همچنین تهیه نرم افزار و قفل فیزیکی آن با شرکت زیست فناوری کوثر تماس بگیرید.

علائم برچسب محصول

برگه ی اطلاعات همراه		نام و آدرس تولیدکننده	
تاریخ تولید		آزمایشگاهی تشخیص پزشکی	IVD
شماره کاتالوگ تولیدکننده	REF	دستورالعمل استفاده	
تاریخ انقضاء		شماره سری تولید	LOT
حد بالا و پایین دمای نگهداری		نمونه ی کنترل	CONTROL
تعداد تست موجود		بارکد محصول	

در صورت برخورد با هرگونه مشکل

در کار با کیت یا آنالیز نتایج از

راه های زیر با ما در تماس باشید.



Kawsar Biotech Company

@Kawsar.Biotech

021-88939150

Info@kawsarbiotech.com

Technicalsupport@kawsarbiotech.com

خیابان ولیعصر، بالاتر از فاطمی، خیابان ایرنا (مجلسی)،
پلاک ۴۱، طبقه سوم، شرکت زیست فناوری کوثر

www.kawsarbiotech.com



نکته

در هر واکنش PCR باید از سه کنترل داخلی (موجود در کیت) و کنترل منفی (NTC) استفاده شود تا درستی عملکرد کیت تایید شود.

روش انجام آزمون

۱. همه اجزا را به دمای اتاق برسانید.

۲. Primer Mix و PCR را مخلوط کرده و به طور مختصر به سمت پایین بچرخانید تا باقی مانده مواد از درب پاک شوند. آنزیم را به آرامی با وارونه کردن یا پیپت کردن مخلوط کنید. مطمئن شوید که همه اجزا ذوب شده اند.

۳. طبق دستور زیر یک مستر میکس برای واکنش خود آماده کنید. هر آماده سازی را می توان در دمای اتاق انجام داد.

۴. به آرامی مستر میکس را ورتکس کنید.

جدول ۲ - آماده کردن میکس PCR

Component	Volume for 1 reaction [μl]
PCR Mix	7
Primer Mix	1
HS Taq DNA Polymerase	0.5
DNA	1*
KBC H2O	10.5**
Total volume	20

* حجم ورودی نمونه را طوری تنظیم کنید که بین ۵۰ تا ۱۵۰ نانوگرم DNA الگو برای هر واکنش استفاده شود. همچنین مقدار ۱ میکرولیتر از نمونه های کنترل استفاده شود.

** به مقداری آب به واکنش اضافه کنید که حجم نهایی به ۲۰ میکرولیتر برسد.

۵. برای هر نمونه ای که می خواهید آنالیز کنید، مقدار لازم از مستر میکس (برای مثال در جدول بالا ۱۹ میکرولیتر) را به هر لوله Real-time PCR منتقل کنید.

۶. مقدار ۵۰-۱۵۰ نانوگرم DNA را به تیوب PCR اضافه کرده و با آب مخصوص PCR حجم آن را به ۲۰ میکرولیتر برسانید.

۷. تیوب های PCR را در دستگاه Real-time PCR قرار دهید.

۸. برنامه ی PCR را با استفاده از پارامترهای جدول ۳ وارد کنید.

۹. واکنش Real time PCR را آغاز کنید. توجه داشته باشید که این واکنش از نوع Taqman است و این پارامتر در نرم افزار دستگاه باید وارد شود.

۱۰. پس از انتخاب واکنش Taqman در نرم افزار، کانال رنگی دو ژن تکثیر شده در کیت را مطابق جدول ۳ مشخص نمایید.

۱۱. پس از اتمام برنامه، آنالیز اطلاعات را بر اساس بخش تفسیر نتایج انجام دهید.