



760 Parkside Avenue, Room 209

Brooklyn, NY 11226, USA

www.QuanDx.com

Info@QuanDx.com

国内总代理：北京思尔成生物技术有限公司 400-6501950 www.siercheng.com

白血病 30 融合基因检测试剂盒 (qPCR 法)

(Leukemia Q-Fusion Screening Kit)

For simultaneous detection of 30 fusion genes in one real-time PCR reaction

用于科研，非诊断试剂

Research Use Only. Not intended for use in diagnostic procedures.

Key to Symbols Used

For <i>In Vitro</i> Diagnostic Use
Catalog Number
Reagent Volume
Lot Number
Storage Conditions
Expiration Date
Authorized Representative in the European Community
Manufacturer
Consult Instructions for Use

【产品名称】

名称：白血病 30 种融合基因检测试剂盒（qPCR 法）

英文名称：Leukemia Q-Fusion Screening Kit

【包装规格】

10 Tests/盒

【预期用途】

本试剂盒适用于白血病中常见 30 种融合基因的检测。包括：MLL-AF9, MLL-AF4, MLL-ENL, MLL-AF10, MLL-SEPT6, MLL-ELL, MLL-AF17, MLL-AF1q, MLL-AF1p, MLL-AF6, PML-RAR α , NPM-RAR α , PLZF-RAR α , AML1-ETO, AML1-MDS1/EVI1, AML1-MTG16, AML1-EAP, TEL-AML1, TEL-PDGFRB, TEL-ABL, E2A-PBX1, E2A-HLF, BCR-ABL, CBF β -MYH11, SIL-TAL1, FIP1L1-PDGFR α , DEK-CAN, SET-CAN, TLS-ERG, NPM-MLF。

【检验原理】

本试剂盒采用荧光 PCR 扩增法，根据各个反应管中是否有阳性信号，获得是否存在融合基因的信息。对于每一份样品，本试剂盒分八管对其进行检测，对应扩增试剂中的 PCR Mix A~H。

【主要组成成份】

逆转录试剂	5XRT 缓冲液*1	1 管	22ul
	RT 酶混合液	1 管	6ul
	RT 引物	1 管	22ul
	DEPC 水	1 管	15ul
扩增试剂	LF PCR Mix A~H	各 1 管	210 μ L
	LF 聚合酶	1 管	18 μ L
对照试剂	LF 阳性对照	1 管	100 μ L
	LF 阴性对照	1 管	100 μ L

*1 含有 dNTP Mixture 与 Mg²⁺

【储存条件及有效期】

试剂盒-18℃以下保存，有效期为 6 个月，试剂盒内各组分有效期与试剂盒相同。反复冻融最好不超过 3 次。需低温下运输。

【适用仪器】

本试剂盒溶解分析可使用带有 FAM、HEX、ROX 及 Cy5 检测通道的实时 PCR 扩增仪，如 Bio-Rad CFX96、ABI 7500、Roche LC480 等。

【样品提取】

对于来源不同的样本（外周血或骨髓），通过适当的方法提取总 RNA，用紫外分光光度计测定获得的样本，其浓度应不小于 100ng/ul，并逆转录成 cDNA。

【逆转录方法】

1: 试剂准备---提取区

① 首先将逆转录试剂从冰箱取出并平衡至室温，振荡混匀数秒，3000rpm 离心数秒。

② 按下列组分配制 RT（逆转录）反应液（反应液配制请在冰上进行）。

试剂	使用量 (uL)	终浓度
RT 缓冲液	2	1X
RT 引物	2	200pmol
RT 酶混合液	0.5	
总 RNA*1	5	
Rnase Free H ₂ O	0.5	

*1 反应体系可按需求相应的放大，10uL 反应体系可最大使用 1ug 的总 RNA。

2: 逆转录---提取区

① 将配制的逆转录体系振荡混匀数秒，3000rpm 离心数秒。

② 逆转录反应条件

{ 37 15min (逆转录反应)
85 5sec (逆转录酶的失活反应)

③ 逆转录产物的稀释

取逆转录产物 10ul 至 40ul ddH₂O（自备），震荡混匀，用于后续检测。

【检验方法】

1: 试剂准备——配液区

- ① 首先将所有的试剂从冰箱取出并平衡至室温。PCR 反应液分八管配制，分别对应 PCR Mix A~H，对于每管反应液的配液标准为：取 $n \times 19.8 \mu\text{L}$ PCR Mix (n 根据待检样本数确定) 和 $n \times 0.2 \mu\text{L}$ LF 聚合酶加入到 1.5 mL 离心管中，振荡混匀数秒，3000 rpm 离心数秒。配好的 PCR 反应液必须贮存在 -18°C 以下并在 4 小时内使用。
- ② PCR 反应液的分装。PCR 反应液 A~H 分别以每管 20 μL 分装于 PCR 薄壁反应管。
- ③ 将配制好的 PCR 反应管装入凹凸袋转移至提取间。

2: 样本提取及加样——提取区

- ① 对于来源不同的样本（外周血或骨髓），通过适当的方法提取总 RNA，用紫外分光光度计测定获得的样本，其浓度应不小于 100ng/ μL ，并逆转录成 cDNA(见上面逆转录步骤)。
- ② 用微量加液器向每支 PCR 薄壁反应管中加入 5 μL 相应的 cDNA 样本或阴/阳性对照品，并立即盖严管盖。
- ③ 将已加入模板的 PCR 薄壁反应管转移至 PCR 扩增区。

3: PCR 扩增——扩增区

- ① 仪器的程序设定如下：

体系	本试剂盒反应体系设为 25 μL		
	阶段	条件	循环数
PCR 反应程序	预变性	95 $^\circ\text{C}$ 3 分钟	1
	Touchdown 循环程序	95 $^\circ\text{C}$ 20 秒	10
		65 $^\circ\text{C}$ 1 分钟(每个循环下降 1 $^\circ\text{C}$)	
		72 $^\circ\text{C}$ 1 分钟	
	PCR 循环程序	95 $^\circ\text{C}$ 20 秒	40
		56 $^\circ\text{C}$ 30 秒 (4 通道采光, FAM、HEX、ROX、Cy5)	
72 $^\circ\text{C}$ 1 分钟			

- ② 程序运行完毕，将 PCR 薄壁反应管（闭管）取出放入凹凸袋，将封口封严，按污染源处理。

【参考值（参考范围）】

内控基因扩增信号（Cy5）Cq 值应小于 25 cycles，阳性信号（非 Cy5）应小于 30 cycles。对于 Cq 值大于 30 的阳性信号，应进行重复，结果一致则判断为阳性，并建议测序验证。

【检验结果的解释】

本试剂盒采用八个反应管检测一份样本，以实现 30 种融合基因的筛查，检测体系中加入内控用于指示扩增成功与否。如果八个反应管中均只有内控基因的扩增信号，即 Cy5 信号，则样本不含有所筛查的 30 种融合基因。如果八个反应管中出现 Cy5 之外的信号，则证明该样本存在融合基因（融合基因的类型参照附表一进行判断）。原则上一个样本只含有一种融合基因，即八个反应中仅有一个可能出现除 Cy5 之外的信号，但有一些特殊的样品，如处于急变期的病人样本可能出现两种融合基因。此外，由于样本中融合基因拷贝数太低或其他操作问题，可能出现非正常的“翘尾”现象（见附图一），建议对此种样本进行重复检测。

【检验方法的局限性】

1. 本试剂盒只能筛查所选的 30 种常见融合基因，其它稀有的融合基因不在本试剂盒的检测范围内。
2. 本试剂盒所仅能检测融合基因，而不能检测出具体哪种融合形式，需进一步实验以确定具体的融合形式。

【产品性能指标】

检测灵敏度：100 copies/反应

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于体外诊断使用，操作人员必须经过培训并具有一定的经验，试剂盒使用前请仔细阅读说明书全文。
2. 进行逆转录相关操作时，应严格按照 RNA 操作规范进行试验，避免 RNA 降解。
3. 请严格按照基因扩增检验实验室的管理规范进行试验操作：如 PCR 试验严格分区操作；各区应

有专用的手套、移液器等，不得交叉使用，避免污染；工作人员应遵循从一区到二区的单方向工作原则，各工作区相对隔离；进行 PCR 试验的工作桌面和及相关物品应定期用 1%次氯酸钠、75%酒精、1mol/L 盐酸或紫外灯进行灭菌和消毒。

4. 试验操作所需的消耗用品应一次性使用，使用前进行无菌处理。试剂盒中各试剂充分融化后请短暂离心。反应液分装时应尽量避免产生气泡。PCR 反应管经瞬时离心后，上机前应避免振摇，应注意检查各反应管是否盖紧，以免污染仪器。
5. 每次试验应设置阴阳性对照。
6. PCR 反应混合液应避光保存。
7. 尽量避免反复冻融，如果需要多次使用，请在第一次融解后将制品按适当量分装后保存。
8. 不同批号的试剂请勿混用，请在有效期内使用试剂盒。

【生产企业】

QuanDx Inc.

760 Parkside Avenue, Room 209

Brooklyn, NY 11226, USA

www.QuanDx.com

Info@QuanDx.com

附表一： 注： A~H 分别代表八个反应管的编号

荧光信号	判定结果
A : <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; B ~H: <i>Cy5</i>	MLL-AF9
A : <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; B ~H: <i>Cy5</i>	PML-RAR α
A : <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; B ~H: <i>Cy5</i>	AML-ETO
B: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A, C ~H: <i>Cy5</i>	MLL-AF4
B: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A, C ~H: <i>Cy5</i>	TEL-AML1
B: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A, C ~H: <i>Cy5</i>	E2A-PBX1
C: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A, B, D ~H: <i>Cy5</i>	MLL-ENL
C: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A, B, D ~H: <i>Cy5</i>	BCR-ABL
C: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A, B, D ~H: <i>Cy5</i>	SIL-TAL1
D: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A~C, E~H: <i>Cy5</i>	MLL-AF10
D: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~C, E~H: <i>Cy5</i>	CBF β -MYH11
D: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~C, E~H: <i>Cy5</i>	AML1-MDS1/EV11
E: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A~D, F~H: <i>Cy5</i>	FIP1L1-PDGFR α
E: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~D, F~H: <i>Cy5</i>	E2A-HLF
E: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~D, F~H: <i>Cy5</i>	SET-CAN
E: <i>ROX</i> + <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~D, F~H: <i>Cy5</i>	DEK-CAN
F: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A~E, G, H: <i>Cy5</i>	MLL-SEPT6
F: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~E, G, H: <i>Cy5</i>	TEL-PDGFR β
F: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~E, G, H: <i>Cy5</i>	TLS-ERG
F: <i>HEX</i> + <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~E, G, H: <i>Cy5</i>	MLL-ELL
G: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A~F, H: <i>Cy5</i>	MLL-AF17
G: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~F, H: <i>Cy5</i>	NPM-MLF
G: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~F, H: <i>Cy5</i>	NPM-RAR α
G: <i>HEX</i> + <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~F, H: <i>Cy5</i>	MLL-AF1q
G: <i>HEX</i> + <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~F, H: <i>Cy5</i>	PLZF-RAR α
H: <i>HEX</i> + <i>Cy5</i> ; A~G: <i>Cy5</i>	MLL-AF1p
H: <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~G: <i>Cy5</i>	AML1-MTG16
H: <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~G: <i>Cy5</i>	TEL-ABL
H: <i>HEX</i> + <i>ROX</i> + <i>Cy5</i> ; A~G: <i>Cy5</i>	MLL-AF6
H: <i>ROX</i> + <i>FAM</i> + <i>Cy5</i> ; A~G: <i>Cy5</i>	AML1-EAP

附图一：

