

Παθολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Πατρών
Αιματολογικό Τμήμα
Ειδική Αιματολογική Μονάδα / Εργαστήριο (ΕΑΜ)

Εργαστήριο Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών

Επιστημονικός Υπεύθυνος:

Σπυριδωνίδης Αλέξανδρος,

Καθηγητής Αιματολογίας / Μεταμόσχευσης Αιμοποιητικών Κυττάρων

**1η Έκδοση
Δεκέμβριος 2019**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Μεταμόσχευση Προγονικών Αιμοποιητικών Κυττάρων (ΜΑΚ) αποτελεί πλέον μια καθιερωμένη θεραπευτική μέθοδο και για ορισμένα νοσήματα αποτελεί την μόνη θεραπεία ίασης. Η μεταμοσχευτική δραστηριότητα στο Π.Γ.Ν.Πατρών ξεκίνησε το 1997. Η μονάδα μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων του Π.Γ.Ν.Π. είναι εξοπλισμένη σύμφωνα με τον νόμο και κατέχει την ειδική άδεια λειτουργίας από το Υπουργείο Υγείας.

Σύμφωνα με τους ευρωπαϊκούς κανόνες λειτουργίας μονάδων μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων, κάθε πρόγραμμα μεταμόσχευσης πρέπει να υποστηρίζεται και από ένα ειδικό εργαστήριο που θα συμβάλλει στην απρόσκοπτη παρακολούθηση των μεταμοσχευμένων ασθενών, ειδικά όσον αφορά την εμφύτευση και ανάπτυξη του μοσχεύματος. Ένας από τους σημαντικότερους λόγους αυτής της τακτικής είναι και η διασφάλιση της σωστής κινητοποίησης εθελοντών δοτών από τις διεθνείς τράπεζες μοσχευμάτων μυελού των οστών.

Σύμφωνα με τους κανόνες καλής κλινικής πρακτικής (Good Clinical Practice, GCP) και τους κανόνες JACIE όλες οι διαδικασίες (SOP, Standard Operating Procedure) πρέπει να είναι καταγεγραμμένες. Όλες οι διαδικασίες που αναφέρονται στο εγχειρίδιο αυτό αποτελούν διεθνώς αποδεκτές πρακτικές που εφαρμόζονται στο Π.Γ.Ν.Π.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. **ΟΡΓΑΝΟΓΡΑΜΜΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΚΑΙ ΠΑΡΟΧΕΣ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ**
2. **ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΕΣ ΥΠΗΡΕΣΙΕΣ ΑΝΑ ΕΤΟΣ**
3. **ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΩΝ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΩΝ**
 - i. Εξετάσεις χιμαιρισμού (Ανάλυση Μικροδορυφορικών Γονιδίων)
4. **STANDARD OPERATING PROCEDURES**
 - i. SOP-Nr. 01/06: Εξετάσεις Χιμαιρισμού με μοριακό έλεγχο
ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΑ ΕΞΕΤΑΣΗ
 - i. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ PRE-BMT
 - ii. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΒΜ
 - iii. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΔΟΤΗΣ
 - iv. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΟΥΔΕΤ
 - v. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΜΝC
 - vi. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΡΒ
 - vii. ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ CD3 + υποπληθυσμών
5. **ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ / ΕΤΗΣΙΟ ΚΟΣΤΟΣ**
6. **ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ / ΕΤΗΣΙΟ ΚΟΣΤΟΣ**
7. **ΣΥΣΚΕΥΕΣ / ΟΡΓΑΝΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ**
8. **ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΓΟΡΑΣΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΕΛΚΕ (ΕΙΚΟΝΕΣ)**
9. **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

ΟΡΓΑΝΟΓΡΑΜΜΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΚΑΙ ΠΑΡΟΧΕΣ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ

Επιστημονικός Υπεύθυνος: Καθηγητής Αλέξανδρος Σπυριδωνίδης

Θεσμικό πλαίσιο: Εργαστήριο παροχής υπηρεσιών στα πλαίσια του Ειδικού Αιματολογικού Εργαστηρίου (ΕΑΜ)

Σκοπός: Υποστήριξη του προγράμματος μεταμόσχευσης του Αιματολογικού Τμήματος του Π.Γ.Ν. Πατρών.

Προσωπικό: Μποτσάκης Κωνσταντίνος, Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

Χρηματοδότηση Προσωπικού: Υπάλληλος Π.Γ.Ν.Π.

Χρηματοδότηση Αναλωσίμων: Π.Γ.Ν.Π, όπως αναφέρεται αναλυτικά παρακάτω.

Χώρος: Ιατρική Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών, 2^{ος} όροφος, Ερευνητικό Εργαστήριο του Αιματολογικού Τμήματος (ΕΑΜ), Γραφείο Β49, ΤΚ 26500, Πανεπιστημιούπολη Ρίου / Πάτρα

Παροχή Υπηρεσιών:

A) Εξετάσεις χιμαιρισμού

- i. Έλεγχος μικροδορυφορικών γονιδίων δότη
- ii. Έλεγχος μικροδορυφορικών γονιδίων ασθενή
- iii. Χιμαιρισμός σε ολικό αίμα
- iv. Χιμαιρισμός σε μυελό των οστών
- v. Χιμαιρισμός σε MNC
- vi. Χιμαιρισμός σε ουδετερόφιλα
- vii. Χιμαιρισμός CD3+ υποπληθυσμών

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΕΣ ΥΠΗΡΕΣΙΕΣ ΑΝΑ ΕΤΟΣ

Επικαιροποίηση Δεκέμβριος 2010

Εξέταση	Κόστος / εξέταση (€) (αναλώσιμα)	Εργατώ ρα / εξέταση	Συχνότητα αναλύσεων / χρόνο (προβλεπόμενη)	Συχνότητα αναλύσεων το 2010
Χιμαιρισμός σε ολικό αίμα	14,5	7	20 /pt x 45 pt= 900	730 αναλύσεις
Χιμαιρισμός σε μυελό των οστών	18,5	8	5/pt x 45 pt = 225	210 αναλύσεις
Έλεγχος μικροδορυφορικών γονιδίων δότη	24,5	7.5	2/pt x 45 pt = 90	98 αναλύσεις
Έλεγχος μικροδορυφορικών γονιδίων ασθενή	24,5	7.5	2/pt x 45 pt = 98	90 αναλύσεις
Χιμαιρισμός ουδετερόφιλα	18,6	8.5	7/pt x 45 pt= 315	430 αναλύσεις
Χιμαιρισμός MNC	18,5	8	10/pt x 45 pt = 450	520 αναλύσεις
Χιμαιρισμός CD3+ κυττάρων	19,1	9.5	5/pt x 45 pt = 225	210 αναλύσεις
Επίπεδα κυκλοσπορίνης		1	50/pt x 20 pt= 1000	1230 αναλύσεις
HLA A,B, DR	122,3	4.5	1/pt x 80 pt= 80	130 αναλύσεις
HLA A	54,4	4	1/pt x 90 pt= 90	140 αναλύσεις
HLA B	70,4	4	1/pt x 100 pt= 100	153 αναλύσεις
HLA DR	56,5	4	1/pt x 80 pt = 80	130 αναλύσεις

ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΩΝ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΩΝ

A) Εξετάσεις χιμαιρισμού (Ανάλυση Μικροδορυφορικών Γονιδίων)

Ενδείξεις:

Σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε αλλογενή μεταμόσχευση

Κλινική σημασία:

A) Έλεγχος εμφύτευσης του μοσχεύματος.

B) Έγκαιρη μοριακή διάγνωση της απόρριψης του μοσχεύματος ή της υποτροπής της νόσου (μοριακή υποτροπή), προτού αυτή εκδηλωθεί κλινικά (αιματολογική υποτροπή). Η μοριακή υποτροπή της νόσου μπορεί να αντιμετωπισθεί αποτελεσματικά με διάφορους χειρισμούς, όπως, άρση της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας, ή χορήγηση λεμφοκυττάρων δότη.

Μεθοδολογία:

Απομόνωση DNA από περιφερικό αίμα ή μυελό των οστών και PCR διαφόρων μικροδορυφορικών γονιδίων. Επίσης σε συγκεκριμένες περιπτώσεις γίνεται έλεγχος χιμαιρισμού σε κυτταρικούς υποπληθυσμούς μετά από απομόνωση των κυττάρων με μαγνητικό διαχωρισμό (μεθοδολογία MACS). Η εξέταση χιμαιρισμού γίνεται με διεθνή κριτήρια και σύμφωνα με δημοσιευμένη εμπειρία (Spyridonidis et al. Clin Transplant. 19:350-356, 2005). Η εγκατάσταση της μεθοδολογίας στην Πάτρα έχει παρουσιαστεί στο 17^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2006 (Θέμελη Μ, και συν. Ανάλυση του χιμαιρισμού με την μελέτη του πολυμορφισμού των μικροδορυφορικών αλληλουχιών. Haema 2006: 9, 214)

Ανάπτυξη της δραστηριότητας:

Για την ανάπτυξη αυτής της δραστηριότητας εκπαιδεύθηκε αρχικά ο επιστημονικός συνεργάτης της Αιματολογικής Κλινικής του ΠΓΝΠ κ. Θεοδώρου Γεώργιος για 5 μήνες (01-05/2005) στο εργαστήριο μεταμόσχευσης του πανεπιστήμιου του Freiburg, στο οποίο ήμουν εγώ υπεύθυνος. Η χρηματοδότηση του έγινε με ερευνητικά μου κονδύλια. Κατά την επιστροφή του ο κ. Θεοδώρου εκπαιδευσε την παρασκευάστρια κ. Γ. Οικονομοπούλου στην εν λόγω τεχνική. Για την αγορά των πρώτων αναλωσίμων και εξοπλισμού διατέθηκαν ερευνητικά κονδύλια του κ. Σπυριδωνίδη (14.000 €).

Συχνότητα εξετάσεων:

M.O. >1.000 /έτος

STANDARD OPERATING PROCEDURES

SOP-Nr.: 01/06

Εξετάσεις Χιμαιρισμού με μοριακό έλεγχο μικροδορυφορικών γονιδίων

SOP-Nr.: 01/06

Ισχύει για: Εργαστήριο Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών Π.Γ.Ν.Π.

Version: 01

Ημερομηνία παρούσας έκδοσης: 01.10.2006

Συντάχθηκε από: Γ. Οικονομοπούλου,

Εγκρίθηκε από : Α. Σπυριδωνίδης

Ισχύει από : 01.01.2007

Διανομή: Εργαστήριο Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών , Αιματολογικό Τμήμα, Παθολογικός Τομέας, Διοίκηση ΠΓΝΠ, Γραφείο Προμηθειών

Αρχειοθέτηση: Βιβλίο ΜΜΑΚ

Συλλογή δειγμάτων - Προετοιμασία

Πριν την Μεταμόσχευση

Για τον ασθενή

- EDTA-PB x2 σωληνάκια \implies Λύση ερυθρών με NH_4Cl \implies ΐζημα σε 2 σωληνάκια (cryogenic vials), αποθήκευση στους -80°C .
- EDTA-BM \implies MNC (Φυκόλη) \implies ΐζημα σε 2 σωληνάκια, αποθήκευση στους -80°C .

Κάνουμε την εξέταση του χιμαιρισμού από το περιφερικό αίμα (EDTA PB)

Για τον Δότη

- EDTA-PB x2 σωληνάκια \implies Λύση ερυθρών με NH_4Cl \implies ΐζημα σε 2 σωληνάκια, αποθήκευση στους -80°C

Η απομόνωση DNA από δείγματα ασθενών πριν τη μεταμόσχευση και από δότες γίνεται χρησιμοποιώντας το Qiagen MidiKit αφού επαναφέρουμε τα δείγματα σε Θ.Δ. Το DNA θα χρησιμοποιηθεί ως δείγμα ελέγχου κατά τον χιμαιρισμό.

Μετά την Μεταμόσχευση

Για χιμαιρισμό

- EDTA-PB x1 σωληνάκι \implies Κάνουμε extraction του DNA (200 μl PB) χρησιμοποιώντας το Qiagen Microkit \rightarrow αποθήκευση του DNA στους -20°C
- EDTA-BM \implies MNC (Φυκόλη) \implies Βάζουμε 100μl από τα διαχωρισμένα λευκά (MNC) σε ένα 15ml falcon σωληνάκι. Προσθέτουμε 500μl PBS+1% HAS (Human Serum Albumin) και χρησιμοποιούμε τα 200 μl του εκχυλίσματος για να κάνουμε extraction του DNA με το Qiagen Microkit. Το DNA αποθηκεύεται στους -20°C ενώ τα υπόλοιπα 300 μl του εκχυλίσματος αποθηκεύεται στους -80°C .

Extraction of DNA Procedure

Όταν έχουμε το δείγμα από τον ασθενή πριν την μεταμόσχευση και το δείγμα από τον δότη, κάνουμε extraction με το **Qiagen Midi kit** (τελικός όγκος του DNA 500μl). Χρησιμοποιούμε την απαιτούμενη ποσότητα DNA για PCR και το υπόλοιπο το αποθηκεύουμε στους -20°C .

Όταν έρθει ένα δείγμα από τον ασθενή μετά την μεταμόσχευση EDTA-PB και EDTA-BM, κάνουμε extraction χρησιμοποιώντας το **Qiagen Micro kit** (τελικό όγκος του DNA 50μl). Χρησιμοποιούμε την απαιτούμενη ποσότητα DNA για PCR και το υπόλοιπο το αποθηκεύουμε στους -20°C .

Πόσο συχνά κάνουμε χιμαιρισμό?

1. Όταν ο ασθενής ξεπεράσει τα 1000 WBC για πρώτη φορά (EDTA-PB+EDTA-BM).
2. Στην ημέρα +30, +100, +1 year (EDTA-PB+EDTA-BM).

Διαδικασία λύσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων με NH_4Cl

1. Βάζουμε το περιφερικό αίμα EDTA-PB σε 50ml falcon σωληνάκι.
2. Γεμίζουμε το falcon σωληνάκι με διάλυμα NH_4Cl (8,4 gr NH_4Cl in 1000ml d. H_2O).
3. Vortex
4. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 5-10 λεπτά.
5. Φυγοκέντρηση στις 2000rpm για 5 λεπτά με φρένο.
6. Απορρίπτουμε το υπερκείμενο.
7. Πλύσιμο 2 φορές με PBS.

8. Γράφουμε στα cryogenic vials: EDTA-PB ή Bone Marrow, μυελός (BM), το όνομα του ασθενή, την ημέρα μετά την μεταμόσχευση και ημερομηνία.
9. Συλλέγουμε το ίζημα στα cryogenic vials και τα αποθηκεύουμε στους -80°C . (NH₄Cl: cat.No 1.01145.1000, 1Kg, Merck)

Για το extraction

1. Φέρνουμε τα cryogenic vial σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Κάνουμε extraction του DNA χρησιμοποιώντας το Qiagen **Midi Kit**

Απομόνωση λευκών αιμοσφαιρίων από μυελό των οστών με φικόλη

1. Βάζουμε τον μυελό σε 50ml falcon, το οποίο περιέχει φικόλη σε αναλογία (2:1), 15ml φικόλη+30ml EDTA bone marrow, μυελό + PBS.
2. Φυγοκέντρηση στις 2000rpm σε ΘΔ για 20 λεπτά χωρίς φρένο.
3. Πλύσιμο 2 φορές με PBS.
4. Βάζουμε 100μl από τα διαχωρισμένα λευκά (MNC) σε ένα 15ml falcon σωληνάκι.
5. Προσθέτουμε 500μl PBS+1% HAS (Human Serum Albumin).
6. Χρησιμοποιούμε 200μl από το πιο πάνω δείγμα για DNA extraction με το Qiagen **Micro Kit**.
7. Το υπόλοιπο το αποθηκεύουμε στους -80°C .

PCR- Microsatellite markers

Χρησιμοποιούμε τους πιο κάτω Microsatellite markers για να βρούμε ποιος είναι κατάλληλος για το ζευγάρι Δότη/Ασθενή και μετά παρακολουθούμε τον ασθενή με τον συγκεκριμένο marker.

a/a	Microsatellite markers	DNA (ng/ml)
1	DS180	50
2	THO1	40
3	SE33	50
4	DYZ1 + ZP3*	50
5	D14S120	50
6	YNZ22	80

* Χρησιμοποιούμε αυτούς τους markers μόνο όταν ο δότης είναι άντρας και η ασθενής γυναίκα.

Όταν έχουμε το extracted DNA από τα δείγματα EDTA-PB από τον ασθενή πριν την μεταμόσχευση και από τον δότη πρέπει να διερευνήσουμε ποιος marker κατάλληλος για αυτούς. Μετά κάθε φορά που έχουμε κάποιο δείγμα PB ή BM από τον ασθενή μετά την μεταμόσχευση για εκτίμηση του χιμαιρισμού τρέχουμε την πιο κάτω PCR χρησιμοποιώντας τον marker που έχουμε ήδη βρει ότι είναι κατάλληλος:

1. Ασθενής πριν την μεταμόσχευση
2. Δότης του ασθενούς
3. Ασθενής στην συγκεκριμένη ημερομηνία

Αραίωση των Primers

1. Προσθέτουμε την κατάλληλη ποσότητα d. H₂O για κάθε Primer και έτσι για κάθε Primer έχουμε συγκέντρωση ίση με **100pmol/μl**.
2. Χωρίζουμε το διάλυμα του κάθε Primer σε eppendorf tubes (aliquots των 65μl σε κάθε eppendorf tube).
3. Αποθήκευση στους -20°C.
4. Για να χρησιμοποιήσουμε τους Primer πρέπει την πιο πάνω συγκέντρωση των **100pmol/μl** να την μετατρέψουμε σε **5pmol/μl** (15μl Primer 100pmol/μl + 285μl d. H₂O).
5. Αποθήκευση στους -20°C.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

Για να εκτελέσουμε την PCR χρησιμοποιούμε τις ποσότητες που περιγράφονται στον ακόλουθο πίνακα και εφαρμόζουμε το πρόγραμμα που ακολουθεί.

D1S80-FAM Hotstart			
50μl Final volume	Number of samples: 1		PAA-GEL
	2,5 μl	Primer 1 (5pmol/μl)	5%
	2,5 μl	Primer 2 (5pmol/μl)	
	25 μl	Mastermix Hotstart	
	approx. 20 μl	d. H ₂ O	
	approx. 40-50 ng/μl	DNA	

Cyclerprogram

1. 15 min 95°C
2. 1 min 94°C
3. 1 min 65°C
4. 1 min 72°C
5. 30 x for Step 2
6. 10 min 72°C
7. soak 12°C
8. End

No mineral oil used

Ηλεκτροφόρηση και χρώση νιτρικού αργύρου

Αφού πάρουμε το προϊόν από την αντίδραση PCR ακολουθεί η ηλεκτροφόρηση σε γέλη πολυακρυλαμιδίου (PAA-Gel) και η χρώση νιτρικού αργύρου.

Τύπος γέλης (Gel)	d. H ₂ O	40% Acrylamide/bis Solution	10 x TBE	APS (1g Ammonium peroxidesulfate up 10 ml d. H ₂ O)	Tetramethylethylene diamine (TEMED)
5% 1 Gel	30 ml	5ml	4ml	225μl	42μl
5% 2 Gels	38ml	6,5ml	5ml	312μl	52μl

Περίπου μια ώρα μετά από την παρασκευή του το gel κρυσταλλώνεται και είναι έτοιμο για χρήση (becomes firm).

Πριν φορτωθεί το προϊόν της PCR στο PAA-Gel πρέπει να αναμιχθεί με το διάλυμα φόρτωσης (Loading buffer).

Loading buffer:

50% Sucrose = 5g

1% SDS (Natriumdodecylsulfat) = 0,1g

0,1% Bromophenol-blue = 0,01g

0,1% Xylenecyanole = 0,01g

up to 10 ml d. H₂O

2 μl από το Loading buffer and 6μl από το PCR-προϊόν αναμιγνύονται σε ένα πηγαδάκι και 6μl από το μείγμα μεταφέρονται αμέσως στο PAA-Gel.

Η ηλεκτροφόρηση τρέχει για περίπου μια ώρα σε 0,5x TBE buffer

Μετά ακολουθεί η χρώση νιτρικού αργύρου.

Χρώση του PAA-Gel

Διάλυμα 1

360 ml d.H₂O

40 ml Αιθανόλη

2 ml Οξικό οξύ (Acetic Acid)

Αφήνουμε το gel σε αυτό το διάλυμα για 5-6 λεπτά (voltex).

Διάλυμα 2

500 ml d.H₂O

0,5 g Νιτρικός Άργυρος Silver nitrate (AgNO₃)

Αφήνουμε το gel σε αυτό το διάλυμα για 12-15 λεπτά (voltex).

Πλένουμε 2 φορές με d.H₂O

Διάλυμα 3

500 ml d.H₂O

7,5g Natriumhydroxide (NaOH)

0,05g Natriumborhydrid (BH₄Na)

2 ml Formaldehyde 37%

Αφήνουμε το gel σε αυτό το διάλυμα για 10-20 λεπτά (vortex).

Μετά σκανάρουμε το gel και διερευνούμε τα αποτελέσματα.

Οδηγός PCR

1.

D1S80-FAM Hotstart			
50µl Final volume	Number of samples: 1		PAA-GEL
	2,5 µl	Primer 1 (5pmol/µl)	5%
	2,5 µl	Primer 2 (5pmol/µl)	
	25 µl	Mastermix Hotstart	
	approx. 20 µl	d. H ₂ O	
	approx. 40-50 ng/µl	DNA	

Cyclerprogram

1. 15 min 95°C
2. 1 min 94°C
3. 1 min 65°C
4. 1 min 72°C
5. 30 x for Step 2
6. 10 min 72°C
7. soak 12°C
8. End
- 9.

No mineral oil used

2.

DYZ1 + ZP3 Hotstart			
50µl Final volume	Number of samples: 1		PAA-GEL
	1,25 µl	Primer 1 (5pmol/µl)	5%
	1,25 µl	Primer 2 (5pmol/µl)	
	1,25 µl	Primer 3 (5pmol/µl)	
	1,25 µl	Primer 4 (5pmol/µl)	
	25 µl	Mastermix Hotstart	
	approx. 20 µl	d. H ₂ O	
	approx. 50-80 ng/µl	DNA	

Cyclerprogram

1. 15 min 95°C
2. 1 min 94°C
3. 1 min 60°C
4. 1 min 72°C
5. 29 x for Step 2
6. 10 min 72°C
7. soak 12°C
8. End

No mineral oil used

3.

SE33 Hotstart			
50µl Final volume	Number of samples: 1		PAA-GEL
	2,5 µl	Primer 1 (5pmol/µl)	5%
	2,5 µl	Primer 2 (5pmol/µl)	
	25 µl	Mastermix Hotstart	
	approx. 20 µl	d. H ₂ O	
	approx. 40-50 ng/µl	DNA	

Cyclerprogram

1. 15 min 95°C
2. 1 min 95°C
3. 1 min 63°C
4. 1 min 72°C
5. 35 x for Step 2
6. 10 min 72°C
7. soak 12°C
8. End

No mineral oil used

4.

THO1 Hotstart			
50µl Final volume	Number of samples: 1		PAA-GEL
	5 µl	Primer 1 (5pmol/µl)	8%
	5 µl	Primer 2 (5pmol/µl)	
	25 µl	Mastermix Hotstart	
	approx. 15 µl	d. H ₂ O	
	approx. 20-40 ng/µl	DNA	

Cyclerprogram

1. 15 min 95°C
2. 30 sec 94°C
3. 30 sec 60°C
4. 30 sec 72°C
5. 31 x for Step 2
6. 10 min 72°C
7. soak 12°C
8. End

No mineral oil used

Σε περίπτωση που ο αναλυτής παρουσιάσει κάποιο άλλο μήνυμα καλούμε τον τεχνικό κ. Πρωτόπαππα στο τηλέφωνο 6942289628.

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ PRE-BMT

Αντιδραστήρια για τον χιμαιρισμό (ΜΜΜΟ)	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ ΕΞΕΤΑΣΗ PRE-BMT
Qiaamp DNA Midi kit (100)	QIAGEN		100 ΤΕΣΤ	1.080	10
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN		1ΚΙΤ	1147.08	3,18
Primers*					0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA		500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF C25H27N2O6S2Na	SIGMA		10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD		500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN		1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM		500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc. 1μg/μl, size:50μg)	INVITROGEN		1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC		100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA		100gr	212	0,1
Formaldehyde 37%	SCHARLAU		2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis C ₆ H ₁₆ N ₂	SERVA		25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB		2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	SIGMA		500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C ₆ H ₉ Br ₄ O ₅ SNa	SIGMA		25 gr	45	0,018
Ethanol, absolute	SCHARLAU		2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA		25 ml	50	0,02
ΠΥΝΧΟΙ 10μl/ΠΥΝΧΟΙ 100μl/ΠΥΝΧΟΙ 200μl/ΠΥΝΧΟΙ 1000μl	GILSON, FINNTIP		1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIO SIGMA		500 τεμ	40	0,24
EPPEdorfs 0.2ML/EPPEdorfs 1.5ML/EPPEdorfs 2ML	SARSTEDT		500 τεμ	223	1,17
SDS ultra pure >99% for electrophoresis (Natriumdodecylsulfat) C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	APPLICHEM		1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ					25 Euro

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΒΜ

Αντιδραστήρια για τον χιμαιρισμό	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ΕΞΕΤΑΣΗ ΒΜ
Qiaamp DNA Mini kit (50)	QIAGEN	50 ΤΕΣΤ	266.20Ε	5,32Ε
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN	1KIT	1147.08	3,18
Primers*				0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA	500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF C25H27N2O6S2Na	SIGMA	10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD	500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN	1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM	500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc. 1μg/μl, size:50μg)	INVITROGEN	1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC	100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA	100gr	212	0,1
Formaldehyde 37%	SCHARLAU	2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine(TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis C ₆ H ₁₆ N ₂	SERVA	25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB	2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	SIGMA	500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C ₆ H ₉ Br ₄ O ₅ SNa	SIGMA	25 gr	45	0,018
FICOLL STEM CELL 17-1440-02	STEM CELL	100ml	94.38	3,76
Ethanol, absolute	SCHARLAU	2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA	25 ml	50	0,02
PBS 1X BIOCHROM L1825	BIOCHROM	500 ml	19.54	0,1
ΡΥΝΧΟΙ 10μλ/ΡΥΝΧΟΙ 100μλ/ΡΥΝΧΟΙ 200μλ/ΡΥΝΧΟΙ 1000μλ	GILSON, FINNTIP	1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIO SIGMA	500 τεμ	40	0,24
EPPEdorfs 0.2ML/EPPEdorfs 1.5ML/EPPEdorfs 2ML	SARSTEDT	500 τεμ	223	1,17
FALCON 15ML/FALCON 50ML	SARSTEDT	500 τεμ	115	0,23
SDS ultra pure >99% for electrophoresis(Natriumdodecylsulfat) C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	APPLICHEM	1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ				19 Euro

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΔΟΤΗΣ

Αντιδραστήρια για τον χιμαιρισμό (ΜΜΜΟ)	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ ΕΞΕΤΑΣΗ ΔΟΤΗΣ
Qiaamp DNA Midi kit (100)	QIAGEN		100 ΤΕΣΤ	1.080	10
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN		1ΚΙΤ	1147.08	3,18
Primers*					0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA		500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF C25H27N2O6S2Na	SIGMA		10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD		500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN		1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM		500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc. 1μg/μl, size:50μg)	INVITROGEN		1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC		100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA		100gr	212	0,1
Formaldehyde 37%	SCHARLAU		2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis C ₆ H ₁₆ N ₂	SERVA		25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB		2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	SIGMA		500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C ₆ H ₉ Br ₄ O ₅ SNa	SIGMA		25 gr	45	0,018
Ethanol, absolute	SCHARLAU		2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA		25 ml	50	0,02
ΡΥΝΧΟΙ 10μl/ΡΥΝΧΟΙ 100μl/ΡΥΝΧΟΙ 200μl/ΡΥΝΧΟΙ 1000μl	GILSON, FINNTIP		1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIO SIGMA		500 τεμ	40	0,24
EPPEdorfs 0.2ML/EPPEdorfs 1.5ML/EPPEdorfs 2ML	SARSTEDT		500 τεμ	223	1,17
SDS ultra pure >99% for electrophoresis (Natriumdodecylsulfat) C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	APPLICHEM		1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ					25 Euro

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΟΥΔΕΤ

Αντιδραστήρια για τον χιμαίρισμό (ΜΜΜΟ)	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ΕΞΕΤΑΣΗ ΟΥΔΕΤ
Qiaamp DNA Mini kit (50)	QIAGEN	50 ΤΕΣΤ	266.20Ε	5,32Ε
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN	1ΚΙΤ	1147.08	3,18
Primers*				0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA	500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF C25H27N2O6S2Na	SIGMA	10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD	500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN	1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM	500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc. 1µg/µl, 50µg)	INVITROGEN	1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC	100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA	100gr	212	0,1
Ammonium Chloride NH4Cl	APPLICHEM	500gr	40	0,033
Formaldehyde 37%	SCHARLAU	2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a.for electrophoresis	SERVA	25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB	2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	SIGMA	500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C6H9Br4O5SNa	SIGMA	25 gr	45	0,018
FICOLL STEM CELL 17-1440-02	STEM CELL	100ml	94.38	3,76
Ethanol, absolute	SCHARLAU	2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA	25 ml	50	0,02
PBS 1X BIOCHROM L1825	BIOCHROM	500 ml	19.54	0,1
ΡΥΝΧΟΙ 10µl/ΡΥΝΧΟΙ 100µl/ΡΥΝΧΟΙ 200µl/ΡΥΝΧΟΙ 1000µl	GILSON, FINNTIP	1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIOSIGMA	500 τεμ	40	0,24
ΕΡΠΕΔΟΡΦΣ 0.2ML/ΕΡΠΕΔΟΡΦΣ 1.5ML/ΕΡΠΕΔΟΡΦΣ 2ML	SARSTEDT	500 τεμ	223	1,17
FALCON 15ML/FALCON 50ML	SARSTEDT	500 τεμ	115	0,23
SDS ultra pure >99% for electrophoresisC ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	APPLICHEM	1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ				19 Euro

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΜΝC

Αντιδραστήρια για τον χιμαιρισμό (ΜΜΜΟ)	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤ Α	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ ΕΞΕΤΑΣΗ ΜΝC
Qiaamp DNA Mini kit (50)	QIAGEN	50 ΤΕΣΤ	266.20Ε	5,32Ε
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN	1KIT	1147.08	3,18
Primers*				0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA	500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF C25H27N2O6S2Na	SIGMA	10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD	500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN	1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM	500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc. 1 μg/μl, size:50μg)	INVITROGEN	1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC	100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA	100gr	212	0,1
Formaldehyde 37%	SCHARLAU	2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis C ₆ H ₁₆ N ₂	SERVA	25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB	2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	SIGMA	500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C ₆ H ₉ Br ₄ O ₅ SNa	SIGMA	25 gr	45	0,018
FICOLL STEM CELL 17-1440-02	STEM CELL	100ml	94.38	3,76
Ethanol, absolute	SCHARLAU	2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA	25 ml	50	0,02
PBS 1X BIOCHROM L1825	BIOCHROM	500 ml	19.54	0,1
ΡΥΝΧΟΙ 10μl/ΡΥΝΧΟΙ 100μl/ΡΥΝΧΟΙ 200μl/ΡΥΝΧΟΙ 1000μl	GILSON, FINNTIP	1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIOSIGMA	500 τεμ	40	0,24
EPPEdorfs 0.2ML/EPPEdorfs 1.5ML/EPPEdorfs 2ML	SARSTEDT	500 τεμ	223	1,17
SDS ultra pure >99% for electrophoresis (Natriumdodecylsulfat) C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	APPLICHEM	1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ				19 Euro

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ ΡΒ

Αντιδραστήρια για τον χιμαιρισμό (ΜΜΜΟ)	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ ΕΞΕΤΑΣΗ
Qiaamp DNA Mini kit (50)	QIAGEN	50 ΤΕΣΤ	266.20Ε	5,32Ε
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN	1ΚΙΤ	1147.08	3,18
Primers*				0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA	500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF C25H27N2O6S2Na	SIGMA	10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD	500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN	1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM	500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc. 1μg/μl, size:50μg)	INVITROGEN	1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC	100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA	100gr	212	0,1
Formaldehyde 37%	SCHARLAU	2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis C ₆ H ₁₆ N ₂	SERVA	25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB	2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	SIGMA	500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C ₆ H ₉ Br ₄ O ₅ SNa	SIGMA	25 gr	45	0,018
Ethanol, absolute	SCHARLAU	2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA	25 ml	50	0,02
ΠΥΝΧΟΙ 10μl/ΠΥΝΧΟΙ 100μl/ΠΥΝΧΟΙ 200μl/ΠΥΝΧΟΙ 1000μl	GILSON, FINNTIP	1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIOSIGMA	500 τεμ	40	0,24
EPEDORFS 0.2ML/EPEDORFS 1.5ML/EPEDORFS 2ML	SARSTEDT	500 τεμ	223	1,17
SDS ultra pure >99% for electrophoresis (Natriumdodecylsulfat) C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	APPLICHEM	1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ				15 Euro

ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΣΗ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΣ CD3+ υποπληθυσμών

Αντιδραστήρια για τον χιμαιρισμό (ΜΜΜΟ)	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ	ΚΟΣΤΟΣ/ ΕΞΕΤΑΣΗ CD3+/CD3-
Qiaamp DNA Mini kit (50)	QIAGEN	50 ΤΕΣΤ	266.20Ε	5,32Ε
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	QIAGEN	1ΚΙΤ	1147.08	3,18
Primers*				0,186
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	SIGMA	500 gr	93	0,00055
XYLENE CYANOLE FF 5H27N2O6S2Na	SIGMA	10gr	100	0,1
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	BIO RAD	500ml	85	0,85
TBE-buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	INVITROGEN	1000ml	35	3,67
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	APPLICHEM	500gr	100	0,022
100 bp DNA Ladder (conc.1μg/μl,50μg)	INVITROGEN	1kit	78	1,56
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	PANREAC	100 gr	133.60	0,67
Natriumborhydrid (NaBH4)	SIGMA	100gr	212	0,1
Formaldehyde 37%	SCHARLAU	2,5 lt	18	0,014
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis	SERVA	25 ml	30	0,05
Acetico Acid 100%	CHEM LAB	2,5 lt	23.47	0,019
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum	SIGMA	500 gr	40	0,04
Bromophenol-blue C6H9Br4O5SNa	SIGMA	25 gr	45	0,018
FICOLL STEM CELL 17-1440-02	STEM CELL	100ml	94.38	3,76
Ethanol, absolute	SCHARLAU	2,5 lt	102	1,63
NUCLEASE FREE WATER	PROMEGA	25 ml	50	0,02
MACS CD3 ISULATION KIT 130-050-101	MILTENYI BIOTEC	1kit	847	0,62
MS COLUMNS			240	
ΣΩΛΗΝΑΡΙΑ ΚΥΤ.ΡΟΗΣ COULTER	SARSTEDT	500 τεμ	30	0,06
PBS 1X BIOCHROM L1825	BIOCHROM	500 ml	19.54	0,1
ΡΥΝΧΟΙ 10μl/ΡΥΝΧΟΙ 100μl/ΡΥΝΧΟΙ 200μl/ΡΥΝΧΟΙ 1000μl	GILSON, FINNTIP	1000 τεμ	133	0,91
ΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΠΙΠΙΤΕΣ PASTEUR	BIO SIGMA	500 τεμ	40	0,24
ΕΡΠΕΔΟΡΦΣ 0.2ML/ΕΡΠΕΔΟΡΦΣ 1.5ML/ΕΡΠΕΔΟΡΦΣ 2ML	SARSTEDT	500 τεμ	223	1,17
FALCON 15ML	SARSTEDT	500 τεμ	55	0,11
SDS ultra pure >99% for electrophoresis	APPLICHEM	1kg	60	0,006
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ				19 Euro

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ / ΕΤΗΣΙΟ ΚΟΣΤΟΣ

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΩΔΙΚΟΣ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑ ΚΙΤ/ ΤΕΜΑΧΙΟ	ΚΟΣΤΟΣ ΤΕΜΑΧΙΟΥ/ ΚΙΤ	ΕΤΗΣΙΑ ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΕΤΗΣΙΟ ΚΟΣΤΟΣ (Euro)
Qiaamp DNA Mini kit (50)	Qiagen	0 400502751	50 test /kit	266,2	10 kit	2.662
Qiaamp DNA Midi kit (100)	Qiagen	0 400502745	100 test /kit	1.080	5kit	5.400
Hot Star Taq Master Mix 1000 units	Qiagen	0 600301011	1kit	1147	5kit	5.735
dis80-S	Eurofins	0 100112483	1kit	29,13	1kit	29
d1d80-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	30,17	1kit	30
Tho1-S	Eurofins	0 100112483	1kit	24,97	1kit	25
Tho1-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	24,97	1kit	25
Se33-S	Eurofins	0 100112483	1kit	38	1kit	38
Se33-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	38	1kit	38
D14s120-S	Eurofins	0 100112483	1kit	19,77	1kit	20
D14s120-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	21,85	1kit	22
Ynz22-S	Eurofins	0 100112483	1kit	21,85	1kit	22
Ynz22-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	38	1kit	38
Zp3-S	Eurofins	0 100112483	1kit	23,93	1kit	24
Zp3-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	24,97	1kit	25
Dyz1-S	Eurofins	0 100112483	1kit	24,97	1kit	25
Dyz1-AS	Eurofins	0 100112483	1kit	26,015	1kit	26
Sucrose Electrophoresis reagent,>99% C12 H22 O11	Sigma	1000101561	500 gr	93	1 τεμ	93
Xylene Cyanole FF C25H27N2O6S2Na	Sigma	1000101547	10gr	100	2 τεμ	200
40% Acrylamide/Bis Solution,29:1	Bio rad	1000101566	500ml	85	5 τεμ	425
APS Ammonium peroxodisulfate>98%, (NH4)2S2O8	Applichem	1000101554	500gr	100	1 τεμ	100
100 bp DNA Ladder (conc. 1µg/µl, size:50µg)	Invitrogen	0 100103776	1kit	78	4 kit	312
Silver nitrate>99% p.a (AgNo3)	Panreac	1000100120	100 gr	133,6	1 τεμ	134
Natriumborhydrid (NaBH4)	Sigma	1000101571	100gr	212	1 τεμ	212
Ammonium Chloride NH4Cl	Applichem	100101799	500gr	40	1 τεμ	40
Formaldehyde 37%	Scharlau	1000101795	2,5 lt	18	1 τεμ	18
Tetramethyl-ethylene diamine (TEMED) 99%, p.a. for electrophoresis C6H16N2	serva	1000101310	25 ml	30	1 τεμ	30
Acetico Acid 100%	Chem lab	1000100101	2,5 lt	23,5	1 τεμ	23.47
Natriumhydroxide (NaOH)> 98% T purum p.a.	Sigma	1000101559	500 gr	40	1 τεμ	40
Bromophenol-blue C6H9Br4O5SNa	Sigma	1000101779	25 gr	45	1 τεμ	45
Ficoll Stem cell 17-1440-02	Stem sell	0 600200207	100ml	95	12 τεμ	1.133

Ethanol, absolute	Scharlau	1000100177	2,5 lt	102	1 τεμ	102
SDS ultra pure >99% for electrophoresis (Natriumdodecylsulfat) C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	Applichem	1000101553	1kg	60	1 τεμ	60
Nuclease free water	Promega	0 100112460	25 ml	50	5 τεμ	250
Pbs 1x biochrom 1X L1825	Biochrom	0 600201804	500 ml	19.54	6 τεμ	118
Paraffin oil	Merk	1000100140	500 ml	20	1 τεμ	20
Macs cd3 isolation kit 130-050-101	Miltenyi Biotec	0 400102901	1kit	847	1 τεμ	847
HLA-A	Innotrain Βαρελας	0 400106309	40 ΤΕΣΤ / kit	994	5 kit	4.970
HLA-B	Innotrain Βαρελας	0 400106310	20 ΤΕΣΤ / kit	817,5	5 kit	4.088
HLA-DR	Innotrain Βαρελας	0 400106311	40ΤΕΣΤ / kit	1080	5 kit	5.400
Taq Polymerase 250U/5U/μλ	Invitrogen	600301004	1kit	131	10 τεμ	1.310
Water For Injection 1LT			10 TEM		5 τεμ	
Agarose	Invitrogen	1000100345	1kg	738	2 τεμ	1.476
TBE-Buffer 10x(0,1MTris+0,9 Boric Acid+0,001M EDTA)	Invitrogen	0 100300121	1000ml	35	10 τεμ	350
Ethidium bromide (διάλυμα, με σταγονόμετρο)	Promega	1000101525	10ml	96	5 τεμ	480
Cyclosporine Monoclonal Whole Blood Reagent Accessories	Abbott	1200100404	1kit	768	7 kit	5.372
Cyclosporine Monoclonal Whole Blood reagent pack	Abbott	1200100404	1kit	52	15 kit	768
Cyclosporine Monoclonal Whole Blood Calibrators	Abbott	1200100401	1kit	45	2 kit	91
Cyclosporine Monoclonal Whole Blood Controls	Abbott	1200100402	1kit	95	10 kit	952
Isoflow Sheath Fluid	Bd	0 400500904	10 LIT	135,3	1 τεμ	135
Dilution buffer	Abbott	0 900100501	1kit	80	10 kit	800
ΣΥΝΟΛΟ						44.555,00 Euro

ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ / ΕΤΗΣΙΟ ΚΟΣΤΟΣ

ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ	ΕΤΑΙΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑ ΚΙΤ/ΤΕΜΑΧΙΟ	ΕΤΗΣΙΑ ΠΟΣΟΤΗΤΑ	ΚΟΣΤΟΣ ΤΕΜΑΧΙΟΥ/ΚΙΤ	ΕΤΗΣΙΟ ΚΟΣΤΟΣ
Ms columns		25 τεμ	2τεμ	240	480
Σωληναρια κυτ.ροης coulter	Sarstedt	500 τεμ	1τεμ	30	30
Compitip plus 0,50 ml	Ritter	1000 τεμ	1 τεμ		
Ρυνχοι 10μλ	Gilson, Finntip	1000 τεμ	5 τεμ	11,5	58
Ρυνχοι 100μλ	Gilson, Finntip	1000 τεμ	5 τεμ	26	130
Ρυνχοι 200μλ	Gilson, Finntip	1000 τεμ	5 τεμ	32	160
Ρυνχοι 1000μλ	Gilson, Finntip	1000 τεμ	5 τεμ	35	175
Πλαστικες πιπιετες Pasteur	Biosigma	500 τεμ	10 τεμ	40	400
Eppendorfs 0.2ML	Sarstedt	500 τεμ	10 τεμ	36,6	366
Eppendorfs 1.5ML	Sarstedt	500 τεμ	10 τεμ	5,3	53
Eppendorfs 2ML	Sarstedt	500 τεμ	10 τεμ	16	156
Falcon15 ml	Sarstedt	500 τεμ	10 τεμ	55	550
Falcon 50 ml	Sarstedt	500 τεμ	10 τεμ	60	600
ΣΥΝΟΛΟ					3158,00 Euro

ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

A/A	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΣΥΣΚΕΥΗΣ	ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΥΣΚΕΥΗΣ - ΟΡΓΑΝΟΥ	ΑΓΟΡΑ ΟΡΓΑΝΩΝ	ΧΡΗΣΗ
1	fume hood (μεγάλη)	labtech model:LFH-120SCI serial#07092101	EAM	χιμαρισμός (XM)
2	cytometer FACS	beckman coulter epics XL MCL (πληκτρολόγιο,οθόνη,εκτυπωτής,κεντρικ ή μονάδα H/Y)	EAM	χιμαρισμός (XM)
3	τροφοδοτικό	biorad model No.Power Pao basic serial#041BR 50350	EAM	χιμαρισμός (XM)
4	centrifuge (για falcon)	hettich universal 320R type:1406 Werk#0001026-01-00	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
5	dry-bath barnsted	barnstead/thermolyne dri-bath type 17600 model#DB17610-26 serial#176941126302 A.M.529 ΠΓΝΠΠ	EAM	χιμαρισμός (XM)
6	(2) vortex	vortex genie scientific industries model G-560E serial#2-65769 A.M.550 ΠΓΝΠΠ	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA/ Κυκλοσπορίνη
7	centrifuge	hettich universal16A type 1601 Werk#4375-01 A.M.544 ΠΓΝΠΠ (για falcon)	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
8	TDX analyzer	ABBOT, αναλυτής ELISA	EAM (χρησιδάνειο)	κυκλοσπορίνη
9	cycler (PCR)	techne model FTC3/02 serial#002447- 1	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
10	cycler (PCR)	MJ research Peltier thermalcycler model PTC-200 SN.EN021940	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
11	centrifuge	hettich universal 32R TYPE 1610 Werk#0002053(για eppendorfs)	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA/ Κυκλοσπορίνη
12	φούρνος μικροκυμάτων	daewoo	EAM	HLA
13	centrifuge	hettich universal320R type1406 Werk#0002147-01-00	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
14	fume hood (μικρή)	astec	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
15	ψυγείο	indesit	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
16	(2) υδατόλουτρο	as biomedical division	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
17	μικροσκόπιο	ZEISS Germany	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
18	καταψύκτης (-80°C)	αποθηκευτικό μέσο	EAM	χιμαρισμός (XM)
19	rotetor οριζοντιο	rotabit	EAM	χιμαρισμός (XM)
20	συσσκευή MACS	MACS ανοσοδιαχωριστής κυττάρων	EAM	χιμαρισμός (XM)
21	2 στηλες απιονισμένου νερου	συστήματα επεξεργασίας H ₂ O άντλησης,Κουράτος Μ.Ιωάννης	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA

22	ηλεκτρονικός υπολογιστής (κεντρική μονάδα, οθόνη, πληκτρολόγιο, εκτυπωτής)	HP	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
23	εκτυπωτής	hp laserjet 1320	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
24	UV transilluminator TFX-20M	GIBCO BRL (life technologies)	EAM	HLA
25	DENVILLE 10	πιπέτα	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
26	Μετρητής κυτάρων x 3	Counter plastic blue Cat. No 3075919 ANTISEΛ	EAM	χιμαρισμός (XM)
27	Ζυγός	Precision Balance model 440-35 A; Weighin ran Cat. No 440-35A ANTISEΛ	EAM	χιμαρισμός (XM)/ HLA
28	pipet-aid (ηλεκτρικός αναρροφητήρας)	Gilson (ANTISEΛ) MACROMAN (Ser.No.: 090939)	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
29	vortex	mixer UZUS10 VTX.3000L model LVM-202 serial#06110313	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
30	καταψύκτης (-20)	sital	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
31	συσσκευή ηλεκτροφορήσης (μεγάλη, οριζοντίας)	scie plas	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	HLA
32	συσσκευή ηλεκτρορόρησης (μικρή, οριζόντια)	scie plas	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	HLA
33	κάθετη συσκευή ηλεκτροφορήσης	peqlab biotechnologie gmbh model 45-1614-i	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)
34	σαρωτής	hp scanjet 3800	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)
35	πολυπιπέτα	πιπέτα	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
36	GILSON 1000x2	GILSON πιπέτα	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
37	GILSON 20 x2	GILSON πιπέτα	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
38	GILSON 200 x2	GILSON πιπέτα	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
39	vortex	GVLAB GILSON	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
40	ψυγείο(4°C)	αποθηκευτικό μέσο	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA / κυκλοσπορίνη
41	συσσκευή ηλεκτροφορήσης (μεγάλη, κάθετη)	αντισελ	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)
42	cuvette	Hellma (light path: 10mm, Centre: 15mm)	ΕΛΚΕ (Σπυριδωνίδης)	χιμαρισμός (XM)/ HLA
43	φωτομετρο	model specgene techne (jenway specgene)	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαρισμός (XM)/ HLA

44	cycler (PCR)	techne TC-412 model FTC41H2D serial#149950-2	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA
45	τροφοδοτικό	consort EV243	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA
46	πολυκάναλη πιπέτα	denville XL 3000i	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA
47	3 βάσεις για πιπέτες	Gilson (ANTΙΣΕΛ)	Δωρεά ANTΙΣΕΛ προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA / κυκλοσπορίνη
48	pipette 1000 μl	denville (Bioanalytica)	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA / κυκλοσπορίνη
49	pipette 100 μl	denville (Bioanalytica)	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA / κυκλοσπορίνη
50	pipette 10 μl	denville (Bioanalytica)	Δωρεά Bioanalytica προς Εργ. Σπυριδωνίδη	χιμαιρισμός (ΧΜ)/ HLA / κυκλοσπορίνη

ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΓΟΡΑΣΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΕΛΚΕ (ΕΙΚΟΝΕΣ)

συσσκευή ηλεκτροφόρησης (μικρή, οριζόντια)



φωτόμετρο



cycler (PCR)



vortex



καταψύκτης (-20)



συσσκευή ηλεκτροφορησης (μεγαλη, οριζοντιας)



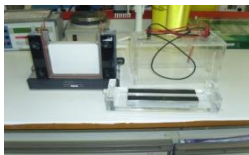
συσσκευή ηλεκτροόρησης (μικρή, οριζόντια)



τροφοδοτικό



συσκευή ηλεκτροφορησης (μικρή κάθετη)



σαρωτής



πολυκάναλη πιπέτα



πολυπιπέτα



GILSON 1000x2



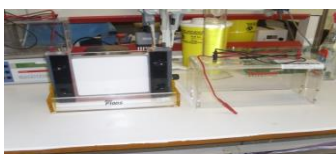
vortex



ψυγείο(4°C)



συσκευή ηλεκτροφόρησης (μεγάλη, κάθετη)



3 βάσεις για πιπέτες



pipette 1000 μ l



cuvette



pipet-aid (ηλεκτρικός αναρροφητήρας)



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

HAEMA 2006: 9 (Suppl1), 214a

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΧΙΜΑΙΡΙΣΜΟΥ ΜΕ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ.

Μαρία Θέμελη, Γεωργία Οικονομοπούλου, Νικόλαος Ζούμπος, Αλέξανδρος Σπυριδωνίδης.
Αιματολογικό Τμήμα Πανεπιστημίου Πατρών.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ

Η Αλλογενής Μεταμόσχευση Αιμοποιητικών Κυττάρων (ΜΑΚ) αποτελεί τη μόνη θεραπευτική προσέγγιση για ένα σημαντικό αριθμό κακοήθων αιματολογικών νοσημάτων. Η ανάλυση του χιμαιρισμού σε τακτά χρονικά διαστήματα μετά τη ΜΑΚ, αποτελεί βασική εξέταση για τον έλεγχο της εμφύτευσης του μοσχεύματος και για την πρώιμη διάγνωση πιθανής απόρριψης του μοσχεύματος ή υποτροπής της νόσου. Η αξιόπιστη ανάλυση χιμαιρισμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την έγκαιρη και αποτελεσματική θεραπευτική αντιμετώπιση σε αυτές τις καταστάσεις π.χ. με τη χορήγηση λεμφοκυττάρων δότη.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εφαρμογή μιας ευαίσθητης, γρήγορης και οικονομικής μεθόδου ανάλυσης χιμαιρισμού με τη εξέταση των πολυμόρφων μικροδορυφορικών γονιδίων. Τα μικροδορυφορικά γονίδια είναι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (1-6 νουκλεοτίδια) διασκορπισμένες σε όλο το γονιδίωμα.

ΜΕΘΟΔΟΣ

• Εγκαταστήσαμε την τεχνική ανίχνευσης των πολυμόρφων τεσσάρων διαφορετικών Μικροδορυφορικών Γονιδίων (ΜΓ) (D1S80, SE33, THO-1, DYZ1ZP3) που ανευρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Από 10ml περιφερικού αίματος ή από διαχωρισμένα με φικώλη κύτταρα μυελού των οστών, έγινε απομόνωση DNA με κλασικές μεθόδους. Η ανίχνευση των πολυμόρφων των ΜΓ έγινε με τη μέθοδο PCR και ακολούθως έγινε ανάλυση με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου 5% και χρώση νιτρικού αργύρου.

• **Ευαισθησία ανίχνευσης μεικτού χιμαιρισμού:** Προκαθορισμένες συγκεντρώσεις DNA και κυττάρων από διαφορετικούς δότες αναμίχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για ανίχνευση ΜΓ. Η μικρότερη συγκέντρωση DNA ή κυττάρων που μπόρεσε να ανιχνευθεί καθόρισε την ευαισθησία της μεθόδου να ανιχνεύει μεικτό χιμαιρισμό σε μεταμοσχευμένους ασθενείς.

• **Ευαισθησία ανίχνευσης ΜΓ:** Εκτιμήθηκε η ικανότητα της τεχνικής να ανιχνεύει ΜΓ σε δείγματα με μικρό αριθμό κυττάρων με πειράματα διαδοχικών αραιώσεων ενός δείγματος.

• **Informativity:** Εκτιμήθηκε η πολυμορφία/ικανότητα γενετικού διαχωρισμού για κάθε ΜΓ σε 10 ζεύγη δότη/λήπτη. Η ικανότητα γενετικού διαχωρισμού υποδεικνύεται από την ύπαρξη ενός τουλάχιστον μοναδικού αλληλίου μεταξύ δότη και λήπτη.

• **Κόστος μεθόδου.**



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

• **Ευαισθησία ανίχνευσης μεικτού χιμαιρισμού.** (Πιν.1, Εικ.1, Εικ.2)

• **Ευαισθησία ανίχνευσης ΜΓ:** Ο ελάχιστος απαιτούμενος αριθμός κυττάρων για την ανίχνευση ΜΓ καθορίστηκε σε 1x10³. (Πιν.2, Εικ.3)

• **Informativity:** Η ανάλυση των ΜΓ στα 10 ζεύγη δότη/λήπτη κατέδειξε για όλα τα ζεύγη τουλάχιστον μία αλληλουχία ικανή για γενετικό διαχωρισμό (100% ικανότητα γενετικού διαχωρισμού). Από τα 6 ζεύγη αδελφών δότη/λήπτη στα 4 βρέθηκε 1 ΜΓ και στα 2 βρέθηκαν 2 ΜΓ, κατάλληλα για γενετικό διαχωρισμό. Στα 4 ζεύγη μη συγγενών δότη/λήπτη βρέθηκαν τουλάχιστον 2 ΜΓ ικανά για γενετικό διαχωρισμό. (Εικ.4, Εικ.5)

• **Κόστος:** Το συνολικό κόστος αυτής της μεθόδου ανάλυσης χιμαιρισμού εκτιμήθηκε σε 15 Ευρώ/εξέταση ή 450 Ευρώ/30 εξετάσεις που αποτελεί τον μέσο όρο απαιτούμενων αναλύσεων για 1 χρόνο παρακολούθησης/μεταμοσχευμένο ασθενή. Σε αντίθεση, η ανάλυση χιμαιρισμού με εμπορικά συστήματα απαιτεί ειδικό εξοπλισμό και το κόστος ανέρχεται σε >150 Ευρώ/εξέταση.

Πιν.1 Ευαισθησία ανίχνευσης μεικτού χιμαιρισμού

ΜΓ	DNA mix	Cell mix
D1S80	1%	5%
SE33	5%	5%
DYZ1ZP3	1%	3%
THO-1	5%	—

Πιν.2 Ευαισθησία ανίχνευσης ΜΓ

ΜΓ	Αριθμός κυττάρων
D1S80	1x10 ³
SE33	1x10 ³
DYZ1ZP3	5x10 ⁴
THO-1	5x10 ⁴

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανάλυση του χιμαιρισμού με τα πέντε αναφερόμενα ΜΓ αναγνώρισε αλληλία ικανά για γενετικό διαχωρισμό σε όλα τα ζεύγη δότη/λήπτη. Η τεχνική εμφάνισε υψηλή ευαισθησία για την ανίχνευση μεικτού χιμαιρισμού, γεγονός που κλινικά αντανακλά στην πρώιμη διάγνωση τυχόν υποτροπής. Η ανάλυση χιμαιρισμού με την ανίχνευση ΜΓ είναι δυνατόν να εφαρμοστεί και σε βιολογικά υλικά με μικρό αριθμό κυττάρων π.χ. εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Τέλος μπορεί να εφαρμοστεί σε κάθε εργαστήριο με βασικό μοριακό εξοπλισμό και έχει χαμηλό κόστος.