

راهنمای کیت HLA-B27 RQ

کیت HLA-B27 RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne و MIC به منظور تشخیص ژن HLA-B27 در DNA انسانی به روش Real-Time PCR می باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می باشد:

برچسب	محتوا	حجم
HLA-B27 RQ Mix	میکس آماده برای PCR	۴۸۰ میکرولیتر
Positive Ctrl	شاهد مثبت	۱۰۰ میکرولیتر
Negative Ctrl	شاهد منفی	۱۰۰ میکرولیتر
Water	آب مخصوص PCR	۲۰۰ میکرولیتر

تمامی مواد کیت باید در دمای ۱۰ تا ۳۰ درجه زیر صفر نگهداری شوند.

کنترل داخلی: برای ارزیابی کیفیت استخراج DNA و احتمال مهار PCR و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، میکس واکنش علاوه بر HLA-B27، حاوی پرایمرها و پروب مخصوص یک ژن انسانی نیز می باشد. کنترل داخلی باید به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC) و CT بین ۲۰ تا ۳۵ منجر شود. برای توضیحات بیشتر به بخش آنالیز رجوع کنید.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، ۱ لوله برای شاهد مثبت، ۱ لوله برای شاهد منفی و ۱ لوله برای آب نیز در نظر بگیرید.

به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **HLA-B27 RQ Mix** و سپس ۵ میکرولیتر از **DNA نمونه** و **یا شاهد ها** یا آب اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید. سپس 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 جدول 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. HLA-B27 Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش **تابش سبز (HLA-B27/FAM)** مربوط به **HLA-B27** و افزایش **تابش زرد (Albumin/VIC)** حاصل از **کنترل داخلی** می باشد.

توجه داشته باشید نمونه تنها زمانی مثبت در نظر گرفته می شود که دارای منحنی سیگموئیدی و فاز لگاریتمی باشد و تنها در این حالت CT معتبر بوده و قابل استناد و تفسیر می باشد. در غیاب منحنی سیگموئیدی، نمونه منفی محسوب می شود و CT آن (در صورت وجود) فاقد ارزش می باشد.

نتایج را با توجه به نکات زیر تفسیر کنید:

- در صورتی که نمونه در هر دو کانال **سبز** و **زرد** مثبت، و CT در کانال **زرد** بین ۲۰ تا ۳۵ باشد و اختلاف CT در دو کانال **سبز** و **زرد** کمتر از ۵ واحد باشد، نمونه از نظر HLA-B27 **مثبت** است.
- در صورتی که نمونه در کانال **زرد** با CT ۲۰ الی ۳۵ مثبت باشد و در کانال **سبز** منفی باشد، نمونه **منفی** است.
- در صورتی که نمونه در کانال **زرد** با CT ۲۰ الی ۳۵ مثبت باشد و در کانال **سبز** نیز با CT ۲۵ الی ۴۰ مثبت باشد و اختلاف CT کانال **سبز** و **زرد**، بیشتر از ۵ واحد باشد نمونه **منفی** است.
- در صورتی که نمونه در کانال **زرد** منفی باشد، نتیجه **نامعتبر** بوده و آزمایش باید **تکرار** شود. استخراج نامناسب یا خطا در تنظیم آزمایش می‌تواند دلیل چنین نتیجه‌ای باشد.

بر اساس نکات بالا نتایج به طور خلاصه در جدول زیر نشان داده شده است:

Δ CT: Green – Yellow	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
Δ CT < 5 in RG Δ CT < 5 in StepOne	+	+	Positive
Δ CT > 5 in RG Δ CT > 5 in StepOne	+	+	Negative
–	–	+	Negative
–	– / +	–	Inconclusive

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	SN	شماره کاتالوگ	REF

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت‌های 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 مراجعه فرمایید یا QR Code موجود بر روی جعبه کیت را اسکن نمایید. جهت کسب اطلاعات بیشتر با پشتیبانی فنی تماس بگیرید.