

راهنمای کیت Adenovirus RQ

کیت Adenovirus RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene ، StepOne ، و MIC به منظور تشخیص و کمیت سنجی DNA آدنوویروس در نمونه 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
Adeno Mix	میکس آماده برای PCR*	۳۶۰ میکرولیتر
AD1	استاندارد ۱: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AD2	استاندارد ۲: یک هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AD3	استاندارد ۳: یک صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
AD4	استاندارد ۴: ده کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
Internal Control	کنترل داخلی	۲۵۰ 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 احتمال استخراج نامناسب و یا مهار PCR و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، کیت حاوی کنترل داخلی می باشد. برای استفاده در مرحله استخراج، کنترل داخلی را پس از افزودن بافر lysis به نمونه، اضافه کنید. میزان مورد نیاز از کنترل داخلی ده درصد حجم حلال نهایی (elution buffer) می باشد. در صورتی که کنترل داخلی را به Adeno Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به Adeno Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR منجر به تولید

فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۷ تا ۳۴ می‌شود. در این حالت کنترل داخلی موفق بودن PCR را نشان می‌دهد.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه‌های مورد آزمایش، ۴ لوله برای استانداردها و یک لوله برای کنترل منفی نیز در نظر بگیرید. **در صورتی که کنترل داخلی را در حین استخراج وارد کرده اید، به هر**

لوله مستقیماً ۱۵ میکرولیتر از Adeno Mix اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به Adeno Mix اضافه نمایید، مطابق توضیحات قسمت قبل کنترل داخلی را به میکس افزوده و ۱۵ میکرولیتر از مخلوط حاصل را به هر لوله منتقل کنید. در پایان ۱۰ میکرولیتر از DNA استخراج

شده، استاندارد یا آب به هر لوله اضافه کنید، درپوش لوله‌ها را ببندید. سپس آن‌ها را مطابق شماره‌ها داخل دستگاه قرار دهید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene یا StepOne از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می‌توانید دستگاه را مطابق برنامه زیر 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	

اندازه‌گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ‌های FAM و VIC تنظیم شود. Adeno Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می‌باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش **تابش FAM/Green** مربوط به **Adenovirus** و افزایش **تابش VIC/Yellow** حاصل از **کنترل داخلی** می‌باشد.

همچنین 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.

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

Green	Yellow	Result
+	+/-	Positive
-	+	Negative
-	-	Inconclusive



محاسبه تیتر ویروس: برای تبدیل نتایج به صورت کپی در میلی لیتر، از معادله زیر استفاده کنید:

$$\text{Result(Copy/ml)} = \frac{\text{Result(Copy/}\mu\text{l)} \times \text{elution volume}(\mu\text{l})}{\text{sample volume(ml)}}$$

محدوده خطی: محدوده خطی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم آدنوویروس بررسی شده است و شامل بازه ده میلیون کپی در میکرولیتر تا ده کپی در میکرولیتر می باشد.

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس Adenovirus بررسی شده است و معادل یک کپی در میکرولیتر می باشد.

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	 -30°C / -10°C	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.