

راهنمای کیت BK RQ

کیت BK RQ جهت کار با دستگاه‌های Rotor-Gene ، StepOne و MIC به منظور تشخیص و کمیت سنجی DNA ویروس BK در نمونه پلاسما یا ادرار به روش Real-Time PCR می‌باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می‌باشد:

برچسب	محتوا	حجم
BK Mix	میکس آماده برای PCR	۳۶۰ میکرولیتر
BK S1	استاندارد ۱: صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
BK S2	استاندارد ۲: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
BK S3	استاندارد ۳: هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
BK S4	استاندارد ۴: صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
Internal Ctrl	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 می‌باشد. 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) می‌باشد. در صورتی که کنترل داخلی را به BK Mix اضافه می‌نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به BK Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۷ تا ۳۲ می‌شود.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های 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 **BK Mix** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **BK Mix** اضافه نمایید، با توجه به توضیحات قسمت کنترل داخلی، آن 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 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 برنامه زیر تنظیم نمایید.

Step	Temperature and time	Cycles
1	95°C x 3 min	1
2	95°C x 20 sec	45
	59°C x 60 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۵۹ درجه و برای رنگ های FAM و VIC تنظیم شود. BK Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

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

همچنین نمونه تنها زمانی مثبت در نظر گرفته می شود که دارای منحنی

سیگموییدی و فاز لگاریتمی باشد و تنها در این حالت CT معتبر بوده و قابل استناد و تفسیر می‌باشد. در غیاب منحنی سیگموییدی، نمونه منفی محسوب می‌شود و (CT آن) در صورت وجود فاقد ارزش می‌باشد.

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

	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	+/-	Positive
2	-	+ (CT 27-32)	Negative
3	-	-	Invalid
4	-	+ (CT>32)	Invalid

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

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

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

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس بررسی شده و معادل دو 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 کیت های 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.