

راهنمای کیت Brucella RQ

کیت Brucella RQ به منظور تشخیص DNA چهار نوع گونه ی باکتری Brucella شامل بروسلا ملیتینسیس (*Brucella melitensis*)، بروسلا سوئیس (*Brucella suis*)، بروسلا آبورتوس (*Brucella abortus*) و بروسلا کانیس (*Brucella canis*) به روش Real-Time PCR می باشد. این کیت برای استفاده با دستگاه های Rotor-Gene ، StepOne ، MIC به جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

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

برچسب	محتوا	حجم
Brucella Mix	میکس آماده برای PCR *	۳۶۰ میکرولیتر
Pos Ctrl	شاهد مثبت	۱۰۰ 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 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 Brucella Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به Brucella Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۸ تا ۳۲ می شود. در این حالت کنترل داخلی موفق بودن PCR را نشان می دهد.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، یک لوله برای کنترل مثبت 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 Brucella Mix** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **Brucella Mix** اضافه نمایید، با توجه به توضیحات کنترل داخلی در دفترچه راهنما، 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، **کنترل** 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 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. Brucella Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

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

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

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم باکتری *Brucella* 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	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.