

# راهنمای کیت CMV RQ

کیت CMV RQ جهت کار با دستگاه‌های Rotor-Gene و StepOne به منظور تشخیص و کمیت سنجی DNA سیتومگالو ویروس انسانی در پلاسما 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
CMV Mix	میکس آماده برای PCR	۳۶۰ میکرولیتر
CMV S1	استاندارد ۱: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
CMV S2	استاندارد ۲: یک هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
CMV S3	استاندارد ۳: یک صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
CMV S4	استاندارد ۴: ده 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 CMV Mix اضافه می‌نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به CMV Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR منجر به تولید

فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۸ 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 CMV Mix اضافه کنید.**

**در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به CMV 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 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. CMV Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می‌باشد.

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

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 می باشد. در غیاب منحنی سیگموییدی، 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/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	-	CMV Pos
2	+	+	CMV Pos
3	-	+ CT 28-34	CMV Neg
4	-	-	Invalid
5	-	+ CT>34	Invalid


**محاسبه تیترو ویروس:** برای تبدیل نتایج به صورت واحد 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 ویروس CMV بررسی شده است و شامل بازه یک میلیون کپی در میکرولیتر تا یک کپی در میکرولیتر می باشد.

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

### توضیحات برچسب:

دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید		تولید کننده		جهت مصارف پژوهشی	<b>RUO</b>
تاریخ انقضاء		تعداد <n> آزمون کافی		کدبهر (شماره بچ)	<b>LOT</b>
محدوده دمایی		شماره سریال	<b>SN</b>	شماره کاتالوگ	<b>REF</b>

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](http://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.