

راهنمای کیت Enterovirus RQ

کیت Enterovirus RQ به منظور تشخیص RNA انتروویروس (Enterovirus) جهت مصارف تحقیقاتی به روش Real-Time RT-PCR طراحی شده است. این کیت همچنین حاوی کنترل داخلی می باشد که از گزارش منفی کاذب حاصل از ناکارآمدی استخراج RNA یا مهار PCR پیشگیری می کند.

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

| برچسب | محتوا | حجم |
|-----------------|---------------------------------|---------------|
| Entero Mix | میکس PCR برای تشخیص Enterovirus | ۳۶۰ میکرولیتر |
| Entero Pos Ctrl | شاهد مثبت Enterovirus | 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 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 با Entero Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به Entero Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن PCR منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۷ تا ۳۴ 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 (آب) نیز در نظر بگیرید. در صورتی که کنترل داخلی را در حین استخراج وارد کرده اید، به هر لوله مستقیماً ۱۵ میکرولیتر از **Entero Mix** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **Entero 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 RNA استخراج شده، **کنترل مثبت** یا آب به هر لوله اضافه کنید.

درپوش لوله ها را بگذارید. سپس آن ها را مطابق شماره ها داخل دستگاه قرار دهید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene و StepOne از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید و سایر دستگاه های Real-Time PCR را می توانید مطابق برنامه زیر تنظیم نمایید.

| Step | Temperature and time | Cycles |
|------|----------------------|--------|
| 1 | 50°C x 10 min | 1 |
| 2 | 95°C x 3 min | 1 |
| 3 | 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. میکس PCR کیت حاوی ROX می باشد. غلظت نهایی ROX در واکنش 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (**FAM/Green**) مربوط به **Enterovirus** و افزایش تابش زرد (**VIC/Yellow**) مربوط به **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 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 | Yellow | Result |
|-------|--------|--------------|
| + | + | Positive |
| - | + | Negative |
| - / + | - | Inconclusive |

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم بررسی شده است. برای انتروویروس معادل ۲۱ کپی در میکرولیتر می باشد، یعنی در ۹۵٪ مواردی که تیتروویروس در نمونه مورد آزمایش بیش از این میزان باشد، توسط این کیت تشخیص داده خواهد شد. در صورت کاهش تیتروویروس به کمتر از این میزان همچنان کیت قادر به تشخیص خواهد بود اما با ضریب اطمینان به مراتب کمتر.

توضیحات برچسب:

| | | | |
|---|----------------------|------------------|-----|
| دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید | تولید کننده | جهت مصارف پژوهشی | RUO |
| تاریخ انقضاء | تعداد <n> آزمون کافی | کدپهر (شماره بچ) | LOT |
| محدوده دمایی -30°C / 10°C | شماره سریال | شماره کاتالوگ | REF |
| | SN | | |

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.