

راهنمای کیت HCV RQ

کیت HCV RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene و StepOne و به منظور تشخیص و کمیت سنجی RNA ویروس هپاتیت ث در پلاسما به روش Real-Time RT-PCR می باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

این کیت برای استفاده با دستگاه های Rotor-Gene و StepOne 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
HCV Mix	میکس RT-PCR	۳۶۰ میکرولیتر
HCV S1	استاندارد ۱: پنجاه هزار واحد در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HCV S2	استاندارد ۲: پنج هزار واحد در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HCV S3	استاندارد ۳: پانصد واحد در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HCV S4	استاندارد ۴: پنجاه واحد 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 یا مهار واکنش و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، این 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 HCV Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به HCV Mix اضافه نمایید.

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. **به هر لوله ۱۵ میکرولیتر از HCV Mix اضافه کنید. سپس ۱۰ میکرولیتر از RNA 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	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. HCV Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش تابش FAM/Green مربوط به HCV 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 استاندارد

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/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	-	HCV Pos
2	+	+	HCV Pos
3	-	+ (CT 28-34)	HCV Neg
4	-	-	Invalid
5	-	+ (CT>34)	Invalid



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

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

محدوده خطی: محدوده خطی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس هپاتیت ث بررسی شده است و شامل بازه دو میلیون و پانصد هزار واحد در میکرولیتر تا پنج واحد در میکرولیتر می باشد.

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس هپاتیت ث بررسی شده و معادل یک و نیم واحد 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	 -10°C / -30°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.