

# راهنمای کیت HIV RQ

کیت HIV-1 RQ جهت کار با دستگاه Rotor-Gene، StepOne، و MIC برای تشخیص و کمیت سنجی RNA ویروس HIV-1 (Group M, subtypes A-H; Group N) در پلاسما به روش Real-Time PCR می باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

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

برچسب	محتوا	حجم
HIV Mix	میکس RT-PCR	۳۶۰ میکرولیتر
HIV S1	استاندارد ۱: پنجاه هزار واحد در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HIV S2	استاندارد ۲: پنج هزار واحد در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HIV S3	استاندارد ۳: پانصد واحد در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HIV 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 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 HIV Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به HIV 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.

**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 **HIV Mix** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **HIV Mix** اضافه نمایید، مطابق 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، **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 30 min	1
2	95°C x 3 min	1
3	95°C x 30 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. HIV Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

**آنالیز نتایج:** توجه داشته باشید که افزایش تابش **FAM/Green** مربوط به **HIV** 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.

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

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

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

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

**محدوده خطی:** محدوده خطی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس HIV-1 بررسی شده است و شامل بازه پنجاه میلیون واحد در میکرولیتر تا پنجاه واحد در میکرولیتر می باشد.

**میزان حساسیت:** حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس HIV-1 بررسی شده و معادل ده واحد 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	 $-30^{\circ}\text{C}$ / $-10^{\circ}\text{C}$	شماره سریال	<b>SN</b>	شماره کاتالوگ	<b>REF</b>

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](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.