

# راهنمای کیت HLA-B18 RQ

کیت HLA-B18 RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne، و MIC به منظور تشخیص ژن HLA-B18 در DNA انسانی 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
HLA-B18 RQ Mix	میکس آماده برای PCR	۴۸۰ میکرولیتر
Positive Ctrl	شاهد مثبت	۱۰۰ میکرولیتر
Negative Ctrl	شاهد منفی	۱۰۰ 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 کیت استخراج DNA و احتمال مهار PCR و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، میکس واکنش علاوه بر HLA-B18 حاوی پرایمرها و پروب مخصوص یک ژن انسانی نیز می باشد. کنترل داخلی باید به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC) و CT بین ۲۰ تا ۳۵ منجر شود. برای توضیحات بیشتر به بخش آنالیز رجوع کنید.

**روش استفاده:** تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، ۱ لوله برای شاهد مثبت، ۱ لوله برای شاهد منفی و ۱ لوله برای آب نیز در نظر بگیرید. به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **HLA-B18 RQ Mix** و سپس ۵ میکرولیتر از **DNA نمونه و یا شاهد ها** یا آب اضافه کنید و 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. HLA-B18 Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

**آنالیز نتایج:** توجه داشته باشید که افزایش **تابش سبز (HLA-B18/FAM)** مربوط به **HLA-B18** و افزایش **تابش زرد (Albumin/VIC)** حاصل از **کنترل داخلی** می باشد.

**توجه داشته باشید 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.**

نتایج را با توجه به نکات زیر تفسیر کنید:

- در صورتی که نمونه در هر دو کانال **سبز** و **زرد** مثبت، و CT در کانال **زرد** بین ۲۰ تا ۳۵ باشد و اختلاف CT در دو کانال **سبز** و **زرد** کمتر از ۵ واحد باشد، نمونه از نظر HLA-B18 **مثبت** است.
- در صورتی که نمونه در کانال **سبز** منفی و در کانال **زرد** مثبت با CT بین ۲۰ تا ۳۵ باشد، نمونه از نظر HLA-B18 منفی است.

- در صورتی که نمونه در کانال **زرد** منفی باشد، نتیجه **نامعتبر** بوده و آزمایش باید **تکرار** شود. استخراج نامناسب یا خطا در تنظیم آزمایش می تواند دلیل چنین نتیجه ای باشد.

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

Green/FAM	Yellow/VIC	$\Delta CT$ : Green – Yellow	Result
+	+	$\Delta CT < 5$ in RG	Positive
-	+	$\Delta CT > 5$ in RG	Negative
- / +	-	-	Inconclusive

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		شماره سریال	SN	شماره کاتالوگ	REF

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.

