

راهنمای کیت HPV HR RQ3

کیت HPV HR RQ3 مخصوص تشخیص ۱۴ تایپ پرخطر (۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۶۶ و ۶۸) و ۲ تایپ کم خطر (۶ و ۱۱) ویروس پاپیلومای انسانی به روش Real-Time PCR با دستگاه های Rotor-Gene و StepOne می باشد و دستگاه Real-Time PCR باید امکان تشخیص هم زمان تابش رنگ های FAM, VIC, ROX را داشته باشد. این کیت برای مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

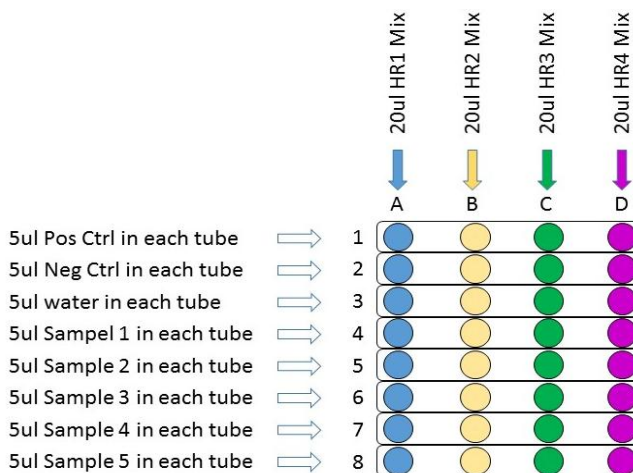
محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می باشد:

برچسب	محتوا	حجم
HPV HR1 Mix	میکس آماده برای PCR*	۴۸۰ میکرولیتر
HPV HR2 Mix	میکس آماده برای PCR*	۴۸۰ میکرولیتر
HPV HR3 Mix	میکس آماده برای PCR*	۴۸۰ میکرولیتر
HPV HR4 Mix	میکس آماده برای PCR*	۴۸۰ میکرولیتر
Pos Ctrl	شاهد مثبت	۱۰۰ میکرولیتر
Neg 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 احتمال استخراج نامناسب یا مهار واکنش و جلوگیری از نتایج منفی کاذب، این کیت حاوی کنترل داخلی می باشد. به این منظور پرایمرها و پروب مخصوص یک ژن انسانی به HR1 Mix افزوده شده است که در صورت عملکرد مناسب باید به تولید فلورسانس با تابش نارنجی (ROX) و CT بین ۲۰ تا ۳۰ منجر شود.

روش استفاده: کیت محتوی ۴ نوع میکس متفاوت می باشد که هر میکس بین ۳ تا ۶ تایپ ویروس پاپیلوما را تشخیص می دهد. بنابراین هر نمونه باید با تمامی ۴ میکس کیت آزمایش شود تا امکان تشخیص ۱۶ تایپ مورد نظر ویروس پاپیلوما فراهم شود. چهار سری لوله مخصوص PCR، هر سری برای یکی از میکس های PCR روی بلوک سرد بگذارید. در هر سری علاوه بر یک لوله برای هر یک از نمونه ها، ۳ لوله نیز برای شاهد های مثبت و منفی، و نمونه آب یا NTC در نظر بگیرید. به عنوان مثال برای آزمایش ۵ نمونه، به ۲۰ لوله برای نمونه ها و ۱۲ لوله برای شاهد ها نیاز داریم که مجموعاً ۳۲ لوله خواهد بود که به صورت ۴ سری ۸ تایی مرتب شده اند.



به هر یک از لوله های سری اول ۲۰ میکرولیتر از **HPV HR1 Mix** اضافه کنید.

به هر یک از لوله های سری دوم ۲۰ میکرولیتر از **HPV HR2 Mix** اضافه کنید.

به هر یک از لوله های سری سوم ۲۰ میکرولیتر از **HPV HR3 Mix** اضافه کنید.

به هر یک از لوله های سری چهارم ۲۰ میکرولیتر از **HPV HR4 Mix** اضافه کنید.

سپس ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده، **شاهد** یا آب به هر لوله اضافه کنید.

به این منظور یک لوله در هر سری برای هر یک از شاهد‌ها در نظر بگیرید.

توجه: در صورت استفاده از دستگاه StepOne لوله‌ها را ابتدا به مدت کوتاهی سانتریفوژ نموده و سپس 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: اندازه‌گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ‌های FAM و VIC و ROX تنظیم شود.

Step	Temperature/time	Cycles
1	95°C x 3 min	1
2	95°C x 15 sec	45
	60°C x 60 sec	

آنالیز نتایج: هر یک از میکس‌های موجود در کیت بین ۳ تا ۶ تایپ پاپیلوما ویروس را تشخیص می‌دهد. با توجه به اینکه نمونه با کدام میکس و در چه کانالی مثبت شده است، می‌توان نتیجه را تفسیر نمود.

توجه داشته باشید نمونه تنها زمانی مثبت در نظر گرفته می‌شود که دارای منحنی سیگموییدی و فاز لگاریتمی و CT کمتر از ۴۰ باشد. در غیاب منحنی سیگموییدی، نمونه منفی محسوب می‌شود. همچنین CT بالاتر از ۴۰ نیز مثبت محسوب نمی‌شود.

همچنین، کنترل داخلی نمونه همیشه باید مثبت باشد یعنی نمونه باید با میکس ۱ در کانال نارنجی همواره مثبت و دارای CT بین ۲۰ تا ۳۰ باشد. در غیر اینصورت یعنی چنانچه نمونه با میکس ۱ در کانال نارنجی منفی باشد یا CT آن بالاتر از ۳۰ باشد، جواب نامعتبر است و آزمایش باید تکرار شود.

نتیجه منفی: در صورتیکه نمونه فقط در **کانال نارنجی** و با میکس ۱ مثبت باشد و با بقیه میکس ها در تمامی کانال ها منفی باشد، نمونه **منفی** می باشد.

نتیجه مثبت: در صورتیکه نمونه در کانال نارنجی با میکس ۱ با CT حدود ۲۰ تا ۳۰ مثبت باشد، آنگاه مطابق جدول صفحه بعد، نتایج را تفسیر کنید:

	Green	Yellow	Orange	Result
HR1 Mix	+	-	IC	Pos: HPV16
HR1 Mix	-	+	IC	Pos: HPV6 or 11
HR2 Mix	+	-	-	Pos: HPV 18
HR2 Mix	-	+	-	Pos HPV39
HR2 Mix	-	-	+	Pos: HPV59
HR3 Mix	+	-	-	Pos: HPV31 or 33
HR3 Mix	-	+	-	Pos: HPV52 or 58
HR3 Mix	-	-	+	Pos: HPV56 or 66
HR4 Mix	+	-	-	Pos: HPV35 or 45
HR4 Mix	-	+	-	Pos: HPV51
HR4 Mix	-	-	+	Pos: HPV68

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم پاپیلوما ویروس انسانی تایپ ۱۶ بررسی شده و معادل ۵۰ کپی در میکرولیتر می باشد.

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 مراجعه فرمایید یا QR Code موجود بر روی جعبه کیت را اسکن نمایید. جهت کسب اطلاعات بیشتر با پشتیبانی فنی تماس بگیرید.