

راهنمای کیت HSV RQ

کیت HSV RQ به منظور تشخیص و کمیت سنجی DNA ویروس هرپس سیمپلکس تایپ ۱ و ۲، (HSV-1/HSV-2) جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne و MIC در نمونه 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
HSV Mix	میکس آماده برای PCR	۳۶۰ میکرولیتر
HSV S1	استاندارد ۱: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HSV S2	استاندارد ۲: یک هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HSV S3	استاندارد ۳: یک صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
HSV S4	استاندارد ۴: ده کپی 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 HSV Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به HSV Mix اضافه نمایید. در صورت موفق بودن آزمایش کنترل داخلی منجر به تولید فلورسانس با تابش زرد (VIC/Yellow) و CT بین ۲۶ 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 شاهد آب نیز در نظر بگیرید.

در صورتی که کنترل داخلی را حین استخراج وارد کرده اید، به هر لوله مستقیماً **۱۵ میکرولیتر از HSV Mix** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **HSV 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 **DNA** استخراج شده، **شاهد** 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	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. HSV Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش **تابش FAM/Green** مربوط به **HSV** و افزایش **تابش VIC/Yellow** حاصل از **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.

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

	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	-	HSV Pos
2	+	+	HSV Pos
3	-	+ (CT 26-34)	HSV Neg
4	-	-	Invalid
5	-	+ (CT>34)	Invalid




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

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

محدوده خطی: محدوده خطی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس هرپس سیمپلکس تایپ ۱ و ۲ بررسی شده است و شامل بازه یک میلیون کپی در میکرولیتر تا دوکپی در میکرولیتر می باشد

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس هرپس سیمپلکس تایپ ۱ و ۲ بررسی شده و معادل ۰/۵ کپی 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	 -30°C / -10°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.