

# راهنمای کیت HSV Typ RQ

کیت HSV Typ RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne، و MIC به منظور تشخیص ژنوتایپ DNA ویروس هرپس سیمپلکس تایپ ۱ و ۲ 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 Typ Mix	میکس آماده برای PCR	۳۶۰ میکرولیتر
HSV-1 Ctrl	شاهد مثبت ویروس هرپس تایپ یک	۱۵۰ میکرولیتر
HSV-2 Ctrl	شاهد مثبت ویروس هرپس تایپ دو	۱۵۰ میکرولیتر
Internal Control	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 Typ Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به HSV Typ Mix اضافه نمایید.

در صورت موفق بودن آزمایش کنترل داخلی منجر به تولید فلورسانس با تابش نارنجی (ROX/Orange) 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، ۳ لوله برای کنترل های مثبت و 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 **HSV Typ Mix** اضافه کنید. در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **HSV Typ 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. سپس 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 40 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ های FAM ، VIC و ROX تنظیم شود.

**توجه داشته باشید که در این آزمایش ROX نباید به عنوان رنگ مرجع (reference dye) انتخاب شود.**

**آنالیز نتایج:** توجه داشته باشید که افزایش تابش سبز (Green) مربوط به **HSV-1**، تابش زرد (Yellow) مربوط به **HSV-2** و تابش نارنجی (ROX) 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.

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

	Green/FAM	Yellow/VIC	ROX	Result
1	+(CT<40)	-	+/-	HSV Typ I
2	-	+(CT<40)	+/-	HSV Typ II
3	-	-	+(CT 26-34)	HSV Neg
4	-	-	-	Invalid
5	-	-	+(CT>34)	Invalid

**میزان حساسیت:** حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از توانایی هدف حاوی بخشی از ژنوم ویروس بررسی شده است و معادل نیم کپی 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°C / 10°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.