

راهنمای کیت HTLV RQ

کیت HTLV-I RQ به منظور تشخیص و کمیت سنجی HTLV-I provirus DNA به روش Real-Time PCR جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne، و MIC 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
HTLV Mix	میکس آماده برای HTLV1	۴۸۰ میکرولیتر
Albumin Mix	میکس آماده برای Albumin	۴۸۰ میکرولیتر
HTLV-Alb S1	استاندارد ۱: صد هزار کپی در میکرولیتر	۲۵۰ میکرولیتر
HTLV-Alb S2	استاندارد ۲: ده هزار کپی در میکرولیتر	۲۵۰ میکرولیتر
HTLV-Alb S3	استاندارد ۳: هزار کپی در میکرولیتر	۲۵۰ میکرولیتر
HTLV-Alb S4	استاندارد ۴: یکصد کپی در میکرولیتر	۲۵۰ میکرولیتر
HTLV-Alb S5	استاندارد ۵: ده کپی در میکرولیتر	۲۵۰ میکرولیتر
Water	آب مخصوص PCR	۲۰۰ میکرولیتر

تمامی مواد کیت باید در دمای ۱۰ تا ۳۰ درجه زیر صفر نگهداری شوند.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، ۵ لوله برای استانداردها و یک لوله برای شاهد منفی نیز در نظر بگیرید.

در گروه اول به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **HTLV Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **DNA** استخراج شده و یا **استانداردها (HTLV-Alb S1-S5)** به هر لوله اضافه کنید.

درپوش لوله ها را بسته و شماره گذاری کنید.

در سری دوم به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **Albumin Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **DNA** استخراج شده و یا **استانداردها (HTLV-Alb S1-S5)** به هر لوله اضافه کنید. درپوش لوله ها را بسته شماره گذاری کنید. لوله 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. HTLV/Albumin Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

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

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

	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	+ (CT 28-40)	HTLV Pos
2	-	+ (CT 28-34)	HTLV Neg
3	-	+ (CT>34)	Invalid
4	-	-	Invalid

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

$$Proviral Load = \frac{HTLV \text{ titre} \times 2 \times 100\%}{Albumin \text{ titre} \times (Lymphocyte \% + Monocyte \%)}$$

محدوده خطی: محدوده خطی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس بررسی شده است و شامل بازه ده میلیون کپی در میکرولیتر تا ده کپی در میکرولیتر می باشد.

میزان حساسیت: حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس و یا آلبومین بررسی شده است و معادل دو کپی در میکرولیتر برای HTLV-I و یک کپی برای ژن آلبومین 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	شماره سریال	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.