

# راهنمای کیت JC RQ

کیت JC RQ به منظور تشخیص و کمیت سنجی DNA ویروس JC در نمونه پلاسما، مایع مغزی نخاعی یا ادرار به روش Real-Time PCR و 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، یک فلش کارت و مواد زیر می باشد:

برچسب	محتوا	حجم
JC Mix	میکس آماده برای PCR	۳۶۰ میکرولیتر
JC S1	استاندارد ۱: صد هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
JC S2	استاندارد ۲: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
JC S3	استاندارد ۳: هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
JC S4	استاندارد ۴: صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
JC IC	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 JC Mix اضافه می نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به JC Mix اضافه نمایید.

**روش استفاده:** تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، چهار لوله برای استانداردها و یک لوله برای 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 **JC Mix** اضافه کنید.

در صورتی که مایلید کنترل داخلی را به **JC 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، **استاندارد** 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. JC Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می باشد.

**آنالیز نتایج:** توجه داشته باشید که افزایش تابش **FAM/Green** مربوط به **JC** و افزایش تابش **VIC/Yellow** 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	Yellow	Result
+	+/-	Positive
-	+	Negative
-	-	Inconclusive




**محاسبه تیتر 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 JC بررسی شده است و شامل بازه یکصد میلیون کپی در میکرولیتر تا پنجاه کپی در میکرولیتر می باشد.

**میزان حساسیت:** حساسیت تشخیصی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس بررسی شده و معادل پنج 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	 $-30^{\circ}\text{C}$ / $-10^{\circ}\text{C}$	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.