راهنمای کیت TB RQ

کیت TB RQ به منظور تشخیص و کمیت سنجی سنجی DNA باکتری های گروه مایکوباکتریوم توبرکولوزیس کمپلکس به روش Real-Time PCR و جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne و MIC می‌باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

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

برچسب	محتوا	حجم
TB Mix	میکس آماده برای PCR	۳۶۰ میکرولیتر
TB S1	استاندارد ۱: صد هزارکپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
TB S2	استاندارد ۲: ده هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
TB S3	استاندارد ۳: هزار کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
TB S4	استاندارد ۴: صد کپی در میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر
TB S5	استاندارد ۵: ده‌کپی 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 می‌باشد. 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) می‌باشد. در صورتی که

کنترل داخلی را به TB Mix اضافه می‌نمایید، به ازای هر واکنش، یک میکرولیتر از کنترل داخلی را به TB Mix اضافه نمایید.

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 کنترل منفی نیز در نظر بگیرید. **به هر لوله ۱۵ میکرولیتر از TB Mix اضافه کنید. سپس 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 می‌توانید 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**	40
	60°C x 60 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۰ درجه و برای رنگ های FAM و VIC تنظیم شود. TB Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی300nM می‌باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که افزایش **تابش FAM/Green** مربوط به **TB** 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 می‌باشد. در غیاب منحنی سیگموییدی، نمونه منفی محسوب می‌شود و CT آن (در صورت وجود) فاقد ارزش می باشد.

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

	Green/FAM	Yellow/VIC	Result
1	+	-	Positive
2	+	+	Positive
3	-	+ (CT 28-34)	Negative
4	-	-	Invalid

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

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

محدوده خطی: محدوده خطی این کیت با استفاده از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس بررسی شده است و شامل بازه یک 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 مایکوباکتریوم بررسی شده است و معادل یک کپی در میکرولیتر می باشد.

توضیحات برچسب:

RUO	جهت مصارف پژوهشی		تولید کننده		دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید
LOT	کدبهر (شماره بچ)	Σ	تعداد <n> آزمون کافی		تاریخ انقضاء
REF	شماره کاتالوگ	SN	شماره سریال	-10°C -30°C	محدوده دمایی

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.