

## نام محصول: کیت تشخیص کیفی HLA-B27 بر اساس RT-PCR (DNABioTech HLA-B27 Detection Real-Time PCR Based)

شماره کاتالوگ: DB01019 تعداد: ۲۴ و ۹۶ تستی

### شرح کیت DNABioTech HLA B27

این کیت بر اساس واکنش زنجیره‌های پلیمرز (Taq Man RT-PCR) طراحی و برای تشخیص در شرایط RUO تهیه شده است. نتایج به دست آمده توسط این محصول باید همراه با سایر داده‌های بالینی یا آزمایشگاهی تفسیر شوند.

### اساس

تشخیص توسط واکنش زنجیره‌های پلیمرز بر اساس تکثیر مناطق خاص ژنوم میباشد. در واکنش Real-Time PCR محصول تکثیر شده از طریق فلوروسنت زرد و سبز شناسایی میشوند.

مشاهده شدت فلوروسنت در حین واکنش RT-PCR تشخیص محصولات در حال تکثیر را بدون نیاز به بازکردن مجدد لوله‌های واکنش پس از انجام ممکن میسازد.

### محتویات کیت

| Title                | 24 Tests         | 96Tests          |
|----------------------|------------------|------------------|
|                      | Volume /Vial     | Volume/Vial      |
| Master A - B27       | 240 µl/tube × 1  | 240 µl/tube × 4  |
| Master B - B27       | 240 µl/tube × 1  | 240 µl/tube × 4  |
| Nuclease Free Water  | 200 µl /tube × 1 | 200 µl /tube × 1 |
| Positive Control B27 | 100 µl/tube × 1  | 100 µl/tube × 1  |

## نگهداری و انتقال کیت

- کلیه محتویات این کیت باید در دمای 20- درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری گردد.
- نگهداری کیت در دمای 4 درجه سانتیگراد هیچ گاه نباید بیشتر از یک ساعت شود.
- این کیت نیاز به حمل بر روی آیس پک را دارد .
- همه مواد موجود در کیت تا تاریخ انقضا، همانطور که روی برجسب بسته بندی محصول مشخص شده است، در شرایط مشخص شده پایدار هستند
- از ذوب و انجماد متعدد خودداری کنید زیرا سبب کاهش حساسیت و در نتیجه عدم کارایی کیت میشود.
- معرفیها را قبل از استفاده در دمای اتاق ذوب کنید. پس از ذوب شدن مواد موجود در کیت، لوله ها را به طور مختصر اسپین کنید تا مطمئن شوید که مواد موجود در کیت به طور یکنواخت مخلوط شده اند .

## کنترلها

1. نمونه بیمار: از محتویات اسید نوکلئیک حاصل از استخراج DNA استفاده شود.
2. کنترل منفی : همواره یک نمونه کنترل منفی حاوی آب بجای نمونه استفاده شود.
3. کنترل مثبت: از کنترل مثبت کیت به جای نمونه در یک واکنش استفاده شود.

## نگهداری نمونه های گرفته شده

نمونه میتواند کمتر از 8 ساعت در یخچال با محدوده دما از 2 تا 8 درجه سانتیگراد و برای نگهداری طولانی مدت آن باید در دمای 20- درجه سانتیگراد منجمد شده و نگهداری شود . تاریخ انقضای کیت : تاریخ انقضای کیت بر روی جعبه محصول درج شده است .

## خالص سازی نوکلئیک اسید

جداسازی اسید نوکلئیک باید توسط کیتهای جداسازی موجود در بازار مطابق پروتکل های جداسازی مواد بالینی خاص انجام شود . برای این کار کیتهای استخراج ستونی و دستگاهی DNABioTech توصیه میگردد.

مواد نمونه باید از نمونه ی خونی که توسط EDTA از انعقاد آن جلوگیری شده است، استخراج شده باشد .

## آماده سازی

پس از ذوب شدن ویالهای حاوی بافر واکنش، پرایمر پروب و کنترل مثبت را به آرامی ورتکس و اسپین نمایید و مانند جدول زیر (روی یخ یا کول باکس) عمل نمایید:

| Reaction Setup    | Volume     |
|-------------------|------------|
| Master A - B27    | 10 $\mu$ l |
| Master B- B27     | 10 $\mu$ l |
| Sample or Control | 5 $\mu$ l  |
| Final volume      | 25 $\mu$ l |

ویال ها را ببندید، آنها را داخل دستگاه قرار دهید و اجازه دهید مطابق مشخصات برنامه قید شده در جدول زیر واکنش انجام شوند. هنگام استفاده از کنترل مثبت یا مواد بالینی بسیاری مراقب باشید.

|  | Temperature | Hold   | Cycle |
|--|-------------|--------|-------|
| Pre-Denaturation   | 95 °C       | 5 min  | 1     |
| Denaturation   | 95 °C       | 20 sec | 35    |
| Annealing and Acquisition on Channel<br>Green And Yellow | 58°C        | 45 sec |       |
| Extension  | 72°C        | 20 min |       |

نکته ۱: بهتر است از هودهای جداگانه برای اضافه کردن مستر واکنش و نمونه های بیمار استفاده کرد و همچنین در نظر داشته باشید که در ویال کنترل مثبت را تنها در محل آماده سازی مستر واکنش و فضای تمیز باز کنید .

نکته ۲: در هر بار انجام تست یک لوله به عنوان NTC باید گذاشته شود. در NTC به جای نمونه استخراج شده از آب استفاده میشود که برای کنترل آلودگی واکنش کاربرد دارد .

## تفسیر نتایج به دست آمده

|             | Green | Yellow  | Result           |
|-------------|-------|---------|------------------|
| HLA-B27 Mix | +     | Ct ≤ 30 | HLA-B27 positive |
|             | -/+   | Ct > 30 | HLA-B27 negative |
|             | -     | -       | Invalid          |

## نکات آنالیز نتایج در دستگاههای مختلف

- با توجه به نوع دستگاه از منوی **Analysis**، **Quantitation** را انتخاب کرده و روی **یکرنگ**، به طور مثال **Green**، دوبار کلیک کنید.
- روی گزینه ی **Outlier Removal** کلیک نمایید و **Threshold Efficiency** واکنش را روی **۰,۰۲** قرار دهید.
- مراحل بالا را برای کانالهای **Yellow** تکرار کرده و آستانه را نیز روی **۰,۰۲** تنظیم کنید.

## اطلاعات تماس:

**آدرس:** تهران، پل گیشا، دانشگاه تربیت مدرس، پارک علم و فناوری، ساختمان بنیان، طبقه منفی یک، شتابدهنده دیبا (DNABioTech)  
**تلفن:** ۰۲۱۸۸۲۲۰۳۱۹ / ۰۹۱۲۸۳۸۲۹۱۵  
**ایمیل:** [dnabioTechco@gmail.com](mailto:dnabioTechco@gmail.com)  
**واتس اپ سفارش:** ۰۹۰۲۲۳۸۲۹۱۵