

# tBioDx™ HPV ExtendScreen™ Kit Short Protocol



برنامه حرارتی real-time PCR:

	Temperature	Time	Florescence data collection
PCR initial activation	95°C	3 min	-
<b>Two-step cycling</b>			
Denaturation	95°C	10 sec	-
Combined annealing/extension	60°C *	30 sec	Green, Yellow, Orange, Red
Number of cycles: 40			

آماده سازی واکنش:

	Tube 1	Tube 2	Tube 3
qPCR Mix 1	15 µL	-	-
qPCR Mix 2	-	15 µL	-
qPCR Mix 3	-	-	15 µL
Patient template DNA	5 µL	5 µL	5 µL
<b>Total reaction volume</b>	<b>20 µL</b>	<b>20 µL</b>	<b>20 µL</b>
<b>Tube 1</b>			
qPCR Mix 1	15 µL		
Positive Control DNA	5 µL		
<b>Total reaction volume</b>	<b>20 µL</b>		
<b>Tube 1</b>			
qPCR Mix 1	15 µL		
NTC (No template control): H2O	5 µL		
<b>Total reaction volume</b>	<b>20 µL</b>		

چیدمان نمونه ها بر روی روتور ۷۲ تایی دستگاه Rotor-Gene Q



# tBioDx™ HPV ExtendScreen™ Kit Short Protocol



آنالیز با الگوهای از پیش آماده (analysis template): این فایلها را پس از دریافت از سایت شرکت زیست تشخیص فردا، از Imported Settings در بخش آنالیز نرم افزار دستگاه انتخاب کنید تا آنالیز به صورت خودکار انجام شود.

Analysis Template Names	
<b>Green</b>	tBioDx HPV ExtendScreen Green channel analysis_V2.qut
<b>Yellow</b>	tBioDx HPV ExtendScreen Yellow channel analysis_V2.qut
<b>Orange</b>	tBioDx HPV ExtendScreen Orange channel analysis_V1.qut
<b>Red</b>	tBioDx HPV ExtendScreen Red channel analysis_Tube_1_V1.qut tBioDx HPV ExtendScreen Red channel analysis_Tube_2_V3.qut tBioDx HPV ExtendScreen Red channel analysis_Tube_3_V3.qut

تنظیمات آنالیز داده ها را میتوانید با استفاده از جدول زیر نیز انجام دهید:

Channels			Green	Yellow	Orange	Red			
qPCR Master Mixes			Tube 1, 2 & 3	Tube 1, 2 & 3	Tube 1, 2 & 3	Tube 1	Tube 2	Tube 3	
Target DNA			HPV 16, 31, 52	HPV 18, 33, 45	IC	HPV 58	HPV Others*	HPV Others*	
Parameters of Normalization									
Normalization	Dynamic tube		Enable	Enable	Enable	Enable	Enable	Enable	
	Use noise slope correction		No	Yes	No	No	No**	No**	
	Ignore first cycles		5	5	Non	5	5	5	
	Adjust take-off points		Enable	Enable	No	Enable	Enable	Enable	
		If take-off point		7	8	-	10	7	7
		Use take-off cycle		20	20	-	25	25	20
Parameters of Outlier Removal									
Filter data "Remove non-amplified curves"	fluorescence change		0%	0%	<5%	<5%	<7%	<7%	
	reaction efficiency		Non	Non	Non	Non	Non	Non	
Parameters of CT Calculation									
Cq calculation	Threshold		0.05	0.05	0.1	0.07	0.05	0.04	
	Threshold start cycle		5	5	5	6	6	7	
			* HPV Others comprises the HPV types 35, 39, 51, 56, 59, 66 & 68						
			** In some cases enabling the noise slope correction is needed.						

# tBioDx™ HPV ExtendScreen™ Kit Short Protocol



تفسیر نتایج:

	qPCR Mix 1 (Target HPV)	qPCR Mix 2 (Target HPV)	qPCR Mix 3 (Target HPV)
<b>Green</b>	HPV 16	HPV 31	HPV 52
<b>Yellow</b>	HPV 18	HPV 33	HPV 45
<b>Orange</b>	IC	IC	IC
<b>Red</b>	HPV 58	HPV Others*	HPV Others*

\* HPV Others comprises the HPV types 35, 39, 51, 56, 59, 66 & 68

تفسیر نتایج برای تیوب ۱

Tube 1	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 16	<34	IC	<30	HPV Positive
HPV 18	<35			
HPV 58	<32			
Tube 1	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 16	>34	IC	<30	HPV Negative
HPV 18	>35			
HPV 58	>32			
Tube 1	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 16	>34	IC	>30	Invalid
HPV 18	>35			
HPV 58	>32			

# tBioDx™ HPV ExtendScreen™ Kit Short Protocol



## تفسیر نتایج برای تیوب ۲

Tube 2	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 31	<32	IC	<30	HPV Positive
HPV 33				
Others				
Tube 2	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 31	>32	IC	<30	HPV Negative
HPV 33				
Others				
Tube 2	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 31	>32	IC	>30	Invalid
HPV 33				
Others				

## تفسیر نتایج برای تیوب ۳

Tube 3	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 52	<33	IC	<30	HPV Positive
HPV 45				
Others				
Tube 3	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 52	>33	IC	<30	HPV Negative
HPV 45				
Others				
Tube 3	Ct value of HPV target	All Tubes	Ct value of IC	Result
HPV 52	>33	IC	>30	Invalid
HPV 45				
Others				