

## 1. Tanım

SBT DiaDirect qPCR Solüsyonu, Viral Transport Medium (VTM) içerisinde bulunan klinik numunelerin herhangi bir nükleik asit saflaştırma işlemine gerek kalmadan qPCR çalışmalarında kullanılabilmesi için geliştirilmiştir. Özel formülasyonu sayesinde VTM içinde bulunan viral patojenlerin, PCR reaksiyonundaki ön denatürasyon basamağında parçalanmasını ve nükleik asidin açığa çıkmasını sağlar. İçeriğinde bulunan özel kimyasallar aracılığı ile açığa çıkan nükleik asidin stabilizasyonunu sağlarken, amplifikasyon sırasında spesifik olmayan bağlanmaları önler ve amplifikasyon verimliliğini yükseltir.

## 2. Taşıma ve Depolama

25 °C'nin altındaki oda sıcaklığında ağzı kapalı şekilde taşınmalı ve saklanmalıdır. Ultraviyole (UV) ışıktan koruyunuz. Son kullanma tarihi için şişe etiketinin üzerine bakınız.

! SBT DiaDirect qPCR Solüsyonu pH ayarlı bir solüsyondur. Solüsyonun pH'sı, ortamda bulunan gazlardan etkilenebilmektedir. Depolama sırasında solüsyonun hava ile teması olmadığından emin olunuz.

## 3. Sunum Şekilleri

SBT DiaDirect qPCR Solüsyonu sunum şekilleri 50 mL, 100 mL ve 200 mL'dir.

## 4. SBT DiaDirect qPCR Reaksiyon Karışımı\*

İçerik**	Miktar	Son Konsantrasyon
2X Master Mix	7,5 µL	1X
Primer Mix	2,5 µL	-
SBT DiaDirect	2,5 µL	-
Örnek (VTM)	2,5 µL	-

\* 2X Master Mix, Primer Mix ve SBT DiaDirect qPCR Solüsyonlarını, oranları koruyarak örnek sayısına göre hesaplayıp, ayrı bir tüpte karıştırınız.

**Vortexlemeyiniz.** Yavaşça alt-üst ederek homojen hale getiriniz. Elde edilen karışımı PCR kuyularına 12,5 µL olacak şekilde dağıtınız.

\*\* İçerik ve miktar tablosu, kullanılan qPCR kitinin markasına göre değişiklik gösterebilmektedir. Optimal sonuçlar için SBT DiaDirect qPCR Solüsyonunu, TÜSEB DiaKit markalı qPCR kitleri ile kullanınız. Farklı markalı bir ürün kullanıyorsanız, SBT DiaDirect optimizasyonu için teknik destek birimimiz ile iletişime geçiniz.

## 5. SBT DiaDirect qPCR Solüsyonu Sıcaklık Protokolü

Sıcaklık	Süre	Döngü
95 °C	3 dk.	1 döngü
95 °C	10 sn.	35 döngü
60 °C***	45 sn.	

\*\*\* Bağlanma-uzama sıcaklığı, kullanılan qPCR kitlelerine göre farklılık gösterebilir. Bağlanma-uzama Sıcaklığını kullandığınız qPCR kit protokolüne göre belirleyiniz.

## 6. Grafik Sonuçlarının Yorumlanması

- Grafik sonuçlarının yorumlanmasında PCR cihazının atadığı oto threshold kullanılmalıdır.
- Threshold altında kalan **lineer** grafikler negatif olarak değerlendirilmelidir.
- Threshold altında kalan ancak net bir şekilde **sigmoidal** yapıda olan grafikler için reaksiyon tekrar edilmelidir.
- Cihazın Ct değeri atadığı ancak **sigmoidal** yapıda olmayan grafikler negatif olarak değerlendirilmelidir.
- Multiplex qPCR kitlerinde, 33. döngüden sonra **lineer** grafikler görülebilir. Bu grafikler genellikle diğer boya kanallarının yansımasıdır. Bu şekilde olan grafikler negatif olarak değerlendirilmelidir.

## 7. Sınırlamalar

- SBT DiaDirect qPCR Solüsyonu, DNA virüsleri için geliştirilmiştir. RNA virüslerinde kullanıma uygun değildir.
- SBT DiaDirect qPCR Solüsyonu, ekstraksiyon basamağını ortadan kaldırır. Bundan dolayı PCR kuyularındaki protein kirliliği oranı artmaktadır. Bu durum, kullanılan qPCR kitinin hassasiyetini % 1-2 oranında düşürebilmektedir.

