

ویروسی معتبر عمل کرد. RNA استخراج شده بصورت مستقیم قبل استفاده برای انجام آزمایش می باشد و در غیر اینصورت RNA استخراج شده ار دمای $0\text{--}70^{\circ}\text{C}$ درجه نگهداری کنید. همچنین تا حد امکان از فریز و دفریز کردن مکرر نمونه RNA خودداری کنید.

آماده سازی مخلوط واکنش

تقسیم مخلوط واکنش:

محتویات کیت را زار داخل جعبه آن خارج کنید و اجازه دهید تا به دمای اتفاق رسیده و بصورت کامل مایع شوند پس از رسیدن محلول هابه دمای اتفاق، ابتدا چند ثانیه تیوب ها را سپین کنید و سپس طبق موارد زیر عمل کرده و هر تیوب واکنش را آماده کنید:

۱. با توجه به آماده بودن مخلوط واکنش ابتدا به هر کدام از تیوب های واکنش $10\text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر از مخلوط واکنش GASARSFlu & RSV Mastermix (حاوی مواد مورد نیاز واکنش و پرایمر و پروب) اضافه کنید.

اضافه کردن الگو (RNA) به مخلوط واکنش

۲. پس از تقسیم مخلوط واکنش، مخلوط های حاصل را به منطقه تمیز انجام آزمایش منتقل کنید.

* **تیوب های نمونه های نامشخص:** به هر کدام از تیوب های واکنش مورد سنجش، $10\text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر الگو RNA اضافه کنید.

* **تیوب کنترل منفی:** به هر کدام از تیوب های واکنش کنترل منفی، $10\text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر از کنترل منفی یا آب عاری از نوکلئاز اضافه کنید.

۳. سپس درب تیوب های موارد ۲ و ۳ را بسته و اسپین کنید (در صورت استفاده از دستگاه های Real Time PCR دارای روتور چرخان نیازی به اسپین کردن تیوب ها نمی باشد).

* **تیوب کنترل مثبت:** در یک فضای دیگر و دور از محوطه آماده سازی سایر مخلوط های واکنش به تیوب واکنش کنترل مثبت، $10\text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر از مخلوط کنترل مثبت موجود در کیت اضافه کنید.

* **قابل ذکر است مخلوط های واکنش زنواحی حاوی مهار کننده آنزیم RNase** mRNA می باشند تا از کیفیت RNA قبل از شروع واکنش رونویسی معکوس کاسته نشود.

میزان مورد نیاز برای هر تست	مواد مورد نیاز برای هر تست
۱۰ میکرولیتر	GA SARSFlu & RSV Mastermix حاوی مواد مورد نیاز برای انجام واکنش و پرایمر و پروب (FAM,HEX,Texas Red, CY5)
۱۰ میکرولیتر	الگو (RNA)، کنترل منفی یا کنترل مثبت
۲۰ میکرولیتر	حجم نهایی واکنش

* قابل ذکر است می توان در زمان استخراج الگو در آخرین مرحله استخراج، با دو برابر کردن حجم Elution بافر (از $50\text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر به $100\text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر) از میزان مهار کننده الگو کاسته تا واکنش با کیفیت بهتری انجام شود.

انجام واکنش

۱. نام گذاری نمونه ها:

تیوب ها را داخل دستگاه Real Time PCR قرار داده و بعد از آن هر کدام از واکنش ها (نمونه مجهول، کنترل مثبت و کنترل منفی) را نام گذاری کنید.

۲. انتخاب کانال سنجش:

کانال های FAM (زن N2, N1 و ORF10 ویروس SARS-CoV-2), کانال HEX (زن P SARS-CoV-2), کانال M2 و M1 برای ویروس آنفلوآنزا (B, A, B, C) به عنوان کنترل داخلی، کانال Texas Red (زن L برای ویروس RSV) را انتخاب کنید.

نکته: در صورت استفاده از دستگاه های شرکت Applied Biosystems (ABI) و دستگاه های مشابه نیازمند رنگ رفنس، لطفاً گزینه رنگ رفنس پس زمینه و کانال CY5 (زن L برای ویروس RSV) را انتخاب کنید.

۳. برنامه دمایی و زمانی واکنش مورد نظر مطابق با شرایط جدول زیر می باشد:

برنامه دمایی و زمانی استاندارد کیت GA SARSFlu & RSV OneStep RT-PCR					
تعداد سیکل	زمان	دما	مرحله	ترتیب واکنش	
۱	۱۵ دقیقه	53°C	cDNA synthesis	۱	
۱	۲ دقیقه	95°C	Holding	۲	
۴۶ سیکل	۵ ثانیه	94°C	Denaturation	۳	
	۲۵ ثانیه	60°C	Annealing, Extension and fluorescence measurement	PCR cycling	۴

پس از ایجاد برنامه و تنظیمات جدید، فایل مورد نظر را ذخیره و شروع انجام واکنش را راه اندازی کنید.

Geneova

Always one step Ahead

راهنمای تشخیص کیت مولکولی نسل جدید

GA SARSFlu & RSV OneStep RT-PCR Kit

نام محصول: کیت تشخیص همزمان ویروس های SARS-CoV-2 ، آنفلوآنزای A

و $\text{TaqMan Real Time PCR}$ با روش RSV

کدمحصول: GA-SARSFluRSV.100

مورد استفاده

ویروس های SARS-CoV-2 ، آنفلوآنزا B، A و RSV در گردش می باشند. این ویروس ها از عوامل مهم ایجاد پنومونی و تنگی نفس در مهره داران در گردش می باشند. این ویروس ها از آنها شیوع همزمان آنها تشخیص همزمان این ویروس ها ممکن نیاز است. این کیت با استفاده از روش $\text{TaqMan Multiplex Real Time PCR}$ قادر به تشخیص همزمان و افتراء ویروس های SARS-CoV-2 ، آنفلوآنزا B و RSV بصورت تک مرحله ای می باشد که نتایج این کیت می تواند به عنوان یک عامل کمک کننده در کنار علائم بالینی برای تشخیص افتراقی بیماری تنفسی حاصل از این ویروس های هدف می باشد.

نحوه عملکرد طراحی

مخلوط پرایمر و پروب این کیت شامل شش جفت پرایمر و پروب به صورت **Senary Target gene** طراحی شده است که نواحی حفاظت شده زن N2، N1 و ORF10 در ویروس SARS-CoV-2 ، زن M2 در ویروس آنفلوآنزا A، نواحی زن M1 در ویروس آنفلوآنزا B و نواحی زن L در ویروس RSV را بصورت همزمان شناسایی می کند و توسط محلول واکنش PCR موجود در کیت تکشیر این الگوها را بصورت کیفی از طریق افزایش سیگنال فلورسانس توسط دستگاه Real Time PCR اندازه گیری می کند کنترل داخلی در این کیت شامل یک طراحی پرایمر و پروب اختصاصی برای RNA RNase P بصورت اندازه زن P می باشد که علاوه بر بررسی مراحل نمونه برداری و استخراج الگو، کیفیت قبل قبول RNA استخراج شده را مشخص کرده تا مانع از گزارش نتایج منفی کاذب شود.

محتویات کیت

این کیت حاوی موارد مورد نیاز آزمایش One Step RT-PCR به فرمت ۱۰۰ تستی بوده که به شرح زیر می باشد:

رده	محلول	مقادیر	تعداد
۱	GA SARSFlu & RSV Mastermix	۵۰۰ میکرولیتر/ویال	۲ ویال ۵۰ تستی
۲	SARSFlu & RSV Positive Control	۱۰۰ میکرولیتر/ویال	۱ ویال
۳	SARSFlu & RSV Negative Control	۱۰۰ میکرولیتر/ویال	۱ ویال

شرایط نگهداری

۱. دمای نگهداری این کیت $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ می باشد.

۲. از فریز و دفریز شدن محلول های موجود در کیت تا حد امکان خودداری کنید.

۳. مدت زمان استفاده از محتویات این کیت تا ۱ سال بعد از زمان تولید می باشد، تاریخ انقضای کیت بر روی کیت درج شده است.

دستگاه های هماهنگ با کیت

این کیت قابلیت انجام در تمامی دستگاه های Real Time PCR با کانال های FAM با کانال های $\text{CY5, TEXAS RED, HEX}$ می باشد.

مشخصات نمونه

۱. نمونه مورد استفاده در این کیت به منظور شناسایی ویروس های SARS-CoV-2 ، آنفلوآنزا A، B و RSV به طور معمول استفاده از ترشحات تنفسی مانند نمونه اوروفارنکس و نازوفارنکس می باشد.

۲. شرایط نمونه گیری: جمع آوری نمونه براساس پروتکل استاندارد مطبق با نوع نمونه انجام شود.

۳. نگهداری و انتقال نمونه: نمونه های جمع آوری شده بلافضله برای ایجاد پنومونی و تنگی نفس در مهره داران در گردش می باشند. آنها شیوع همزمان آنها تشخیص همزمان است. این کیت با استفاده از روش $\text{TaqMan Multiplex Real Time PCR}$ قادر به تشخیص همزمان و افتراء ویروس های SARS-CoV-2 ، آنفلوآنزا B و RSV می باشد.

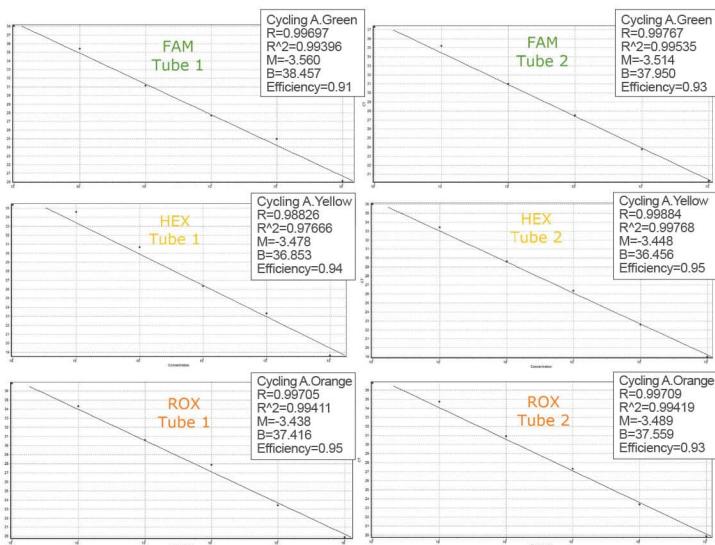
۴. شرایط نمونه گیری: جمع آوری نمونه براساس پروتکل استاندارد مطبق با نوع نمونه انجام شود.

۵. نگهداری و انتقال نمونه: نمونه های جمع آوری شده بلافضله برای ایجاد پنومونی و تنگی نفس در مهره داران در گردش می باشند. آنها شیوع همزمان آنها تشخیص همزمان است. این کیت با استفاده از روش $\text{TaqMan Multiplex Real Time PCR}$ قادر به تشخیص همزمان و افتراء ویروس های SARS-CoV-2 ، آنفلوآنزا B و RSV می باشد.

آماده سازی الگو پیش از آزمایش

الگو مورد نیاز برای انجام این تست، RNA ویروسی بوده که می توان طبق پروتکل استاندارد Qiagen DSP Viral RNA می باشد. کیت های معتر استخراج مانند

پس از انجام و خاتمه واکنش، نتایج ذخیره شده را مطابق با جدول زیر آنالیز کنید:



نمودار استاندارد پرایمر و پروب های کیت GA 16Plex HPV Typing RT-PCR در کانال های جدایه نوب اول و دوم

Analytical Sensitivity کیت (LoD) برای زن ژنتوپی ۱۶ و ۱۸ برابر با ۵۰۰ کپی در هر واکنش تکرار ۲۰ تایی است. Sensitivity Diagnostic کیت بالاتر از ۹۵ درصد می باشد و رنچ دینامیک و رنچ خطی کیت موجود برابر با 10^{10} می باشد. عرض از مبدأ واکنش (میزان Cq) قابل قبول در کمترین کپی در سیکل ۴۰ بوده و ضریب همبستگی واکنش (۰^۲) یا میزان تقابل با منحنی استاندارد در حدود ۰.۹۹ درصد می باشد. همچنین بازده واکنش در کانال های مختلف برابر با ۰.۹۱ تا ۰.۹۵ درصد است.

خطرات و پیشگیری

۱. لطفاً پیش از استفاده راهنمای کیت را با دقت مطالعه کنید. پرسنل آزمایشگاه باید آموزش دیده و آشنایی کامل با روند و خطوات دستگاه ها را داشته باشند. تمام وسائل و امکانات باید پیش از استفاده استریل بوده و این وسائل جایه جایی بین بخش های مختلف PCR در آن دیده نشود. در واقع هر بخش باید وسائل و مواد مختص به خود را داشته باشد. به همراه این کیت، لوازم نمونه گیری، نگهداری نمونه و استخراج ژنوم وجود ندارد و در زمان انجام تست توصیه می شود از تیپ های فیلتر دار استفاده شود.

۲. این کیت تنها قابلیت استفاده در شرایط آزمایشگاهی را دارد و کاربرد دیگری برای آن منصور نیست. همچنین کنترل کیفی برای هر آزمایش انجام شود.

۳. مدیریت آزمایشگاه طبق دستورالعمل های آزمایشگاه های مولکولی انجام گیرد. تمام نمونه ها باید به صورت بالقوه عفنونی در نظر گرفته شوند و باید در یک فصل یا هود با کلاس ایمنی زیستی سطح II نمونه مورد پردازش قرار گیرد. پرسنل تمامی تمہیدات لازم مانند تجهیزات حفاظت شخصی (PPE) که شامل استفاده از دستکش های یکبار مصرف، عینک، گان یا روپوش آزمایشگاهی می شود را رعایت کند. به همراه این کیت لوازم نمونه گیری، نگهداری نمونه، استخراج ژنوم، سرسیمپلر و لوازم محافظتی شخصی مورد نیاز وجود ندارد که لازم است قبل از استفاده تهیه شود.

۴. پرسنل در طی انجام مراحل استخراج یا آماده سازی مخلوط واکنش، دستکش های خود را بین هر مرحله باید مرتبت تعویض کند تا از ایجاد آلودگی های کاذب کننده در روند آزمایش جلوگیری کند. مراحل کار باید طبق شرایط استاندارد آزمایشگاه در پیشگیری از ایجاد آلودگی و عفونت انجام گیرد. همچنین شرایط دفع زباله های عفنونی این تست به مانند دیگر عوامل بیماری زامی باشد.

۵. شرایط نگهداری این کیت به مدت ۷ روز در دمای یخچال یا در پک های یخی می باشد که برای نگهداری طولانی مدت و حفظ نیمه عمر محصول آن را در دمای ۰-۲۰°C قرار دهید.

۱. کانال
۲. کانال
۳. کانال
۴. کانال
۵. کانال
۶. کانال
۷. کانال
۸. کانال
۹. کانال
۱۰. کانال
۱۱. کانال
۱۲. کانال
۱۳. کانال
۱۴. کانال
۱۵. کانال
۱۶. کانال
۱۷. کانال
۱۸. کانال
۱۹. کانال
۲۰. کانال
۲۱. کانال
۲۲. کانال
۲۳. کانال
۲۴. کانال
۲۵. کانال
۲۶. کانال
۲۷. کانال
۲۸. کانال
۲۹. کانال
۳۰. کانال
۳۱. کانال
۳۲. کانال
۳۳. کانال
۳۴. کانال
۳۵. کانال
۳۶. کانال
۳۷. کانال
۳۸. کانال
۳۹. کانال
۴۰. کانال
۴۱. کانال
۴۲. کانال
۴۳. کانال
۴۴. کانال
۴۵. کانال
۴۶. کانال
۴۷. کانال
۴۸. کانال
۴۹. کانال
۵۰. کانال
۵۱. کانال
۵۲. کانال
۵۳. کانال
۵۴. کانال
۵۵. کانال
۵۶. کانال
۵۷. کانال
۵۸. کانال
۵۹. کانال
۶۰. کانال
۶۱. کانال
۶۲. کانال
۶۳. کانال
۶۴. کانال
۶۵. کانال
۶۶. کانال
۶۷. کانال
۶۸. کانال
۶۹. کانال
۷۰. کانال
۷۱. کانال
۷۲. کانال
۷۳. کانال
۷۴. کانال
۷۵. کانال
۷۶. کانال
۷۷. کانال
۷۸. کانال
۷۹. کانال
۸۰. کانال
۸۱. کانال
۸۲. کانال
۸۳. کانال
۸۴. کانال
۸۵. کانال
۸۶. کانال
۸۷. کانال
۸۸. کانال
۸۹. کانال
۹۰. کانال
۹۱. کانال
۹۲. کانال
۹۳. کانال
۹۴. کانال
۹۵. کانال
۹۶. کانال
۹۷. کانال
۹۸. کانال
۹۹. کانال
۱۰۰. کانال
۱۰۱. کانال
۱۰۲. کانال
۱۰۳. کانال
۱۰۴. کانال
۱۰۵. کانال
۱۰۶. کانال
۱۰۷. کانال
۱۰۸. کانال
۱۰۹. کانال
۱۱۰. کانال
۱۱۱. کانال
۱۱۲. کانال
۱۱۳. کانال
۱۱۴. کانال
۱۱۵. کانال
۱۱۶. کانال
۱۱۷. کانال
۱۱۸. کانال
۱۱۹. کانال
۱۲۰. کانال
۱۲۱. کانال
۱۲۲. کانال
۱۲۳. کانال
۱۲۴. کانال
۱۲۵. کانال
۱۲۶. کانال
۱۲۷. کانال
۱۲۸. کانال
۱۲۹. کانال
۱۳۰. کانال
۱۳۱. کانال
۱۳۲. کانال
۱۳۳. کانال
۱۳۴. کانال
۱۳۵. کانال
۱۳۶. کانال
۱۳۷. کانال
۱۳۸. کانال
۱۳۹. کانال
۱۴۰. کانال
۱۴۱. کانال
۱۴۲. کانال
۱۴۳. کانال
۱۴۴. کانال
۱۴۵. کانال
۱۴۶. کانال
۱۴۷. کانال
۱۴۸. کانال
۱۴۹. کانال
۱۵۰. کانال
۱۵۱. کانال
۱۵۲. کانال
۱۵۳. کانال
۱۵۴. کانال
۱۵۵. کانال
۱۵۶. کانال
۱۵۷. کانال
۱۵۸. کانال
۱۵۹. کانال
۱۶۰. کانال
۱۶۱. کانال
۱۶۲. کانال
۱۶۳. کانال
۱۶۴. کانال
۱۶۵. کانال
۱۶۶. کانال
۱۶۷. کانال
۱۶۸. کانال
۱۶۹. کانال
۱۷۰. کانال
۱۷۱. کانال
۱۷۲. کانال
۱۷۳. کانال
۱۷۴. کانال
۱۷۵. کانال
۱۷۶. کانال
۱۷۷. کانال
۱۷۸. کانال
۱۷۹. کانال
۱۸۰. کانال
۱۸۱. کانال
۱۸۲. کانال
۱۸۳. کانال
۱۸۴. کانال
۱۸۵. کانال
۱۸۶. کانال
۱۸۷. کانال
۱۸۸. کانال
۱۸۹. کانال
۱۹۰. کانال
۱۹۱. کانال
۱۹۲. کانال
۱۹۳. کانال
۱۹۴. کانال
۱۹۵. کانال
۱۹۶. کانال
۱۹۷. کانال
۱۹۸. کانال
۱۹۹. کانال
۲۰۰. کانال
۲۰۱. کانال
۲۰۲. کانال
۲۰۳. کانال
۲۰۴. کانال
۲۰۵. کانال
۲۰۶. کانال
۲۰۷. کانال
۲۰۸. کانال
۲۰۹. کانال
۲۱۰. کانال
۲۱۱. کانال
۲۱۲. کانال
۲۱۳. کانال
۲۱۴. کانال
۲۱۵. کانال
۲۱۶. کانال
۲۱۷. کانال
۲۱۸. کانال
۲۱۹. کانال
۲۲۰. کانال
۲۲۱. کانال
۲۲۲. کانال
۲۲۳. کانال
۲۲۴. کانال
۲۲۵. کانال
۲۲۶. کانال
۲۲۷. کانال
۲۲۸. کانال
۲۲۹. کانال
۲۳۰. کانال
۲۳۱. کانال
۲۳۲. کانال
۲۳۳. کانال
۲۳۴. کانال
۲۳۵. کانال
۲۳۶. کانال
۲۳۷. کانال
۲۳۸. کانال
۲۳۹. کانال
۲۴۰. کانال
۲۴۱. کانال
۲۴۲. کانال
۲۴۳. کانال
۲۴۴. کانال
۲۴۵. کانال
۲۴۶. کانال
۲۴۷. کانال
۲۴۸. کانال
۲۴۹. کانال
۲۵۰. کانال
۲۵۱. کانال
۲۵۲. کانال
۲۵۳. کانال
۲۵۴. کانال
۲۵۵. کانال
۲۵۶. کانال
۲۵۷. کانال
۲۵۸. کانال
۲۵۹. کانال
۲۶۰. کانال
۲۶۱. کانال
۲۶۲. کانال
۲۶۳. کانال
۲۶۴. کانال
۲۶۵. کانال
۲۶۶. کانال
۲۶۷. کانال
۲۶۸. کانال
۲۶۹. کانال
۲۷۰. کانال
۲۷۱. کانال
۲۷۲. کانال
۲۷۳. کانال
۲۷۴. کانال
۲۷۵. کانال
۲۷۶. کانال
۲۷۷. کانال
۲۷۸. کانال
۲۷۹. کانال
۲۸۰. کانال
۲۸۱. کانال
۲۸۲. کانال
۲۸۳. کانال
۲۸۴. کانال
۲۸۵. کانال
۲۸۶. کانال
۲۸۷. کانال
۲۸۸. کانال
۲۸۹. کانال
۲۹۰. کانال
۲۹۱. کانال
۲۹۲. کانال
۲۹۳. کانال
۲۹۴. کانال
۲۹۵. کانال
۲۹۶. کانال
۲۹۷. کانال
۲۹۸. کانال
۲۹۹. کانال
۳۰۰. کانال
۳۰۱. کانال
۳۰۲. کانال
۳۰۳. کانال
۳۰۴. کانال
۳۰۵. کانال
۳۰۶. کانال
۳۰۷. کانال
۳۰۸. کانال
۳۰۹. کانال
۳۱۰. کانال
۳۱۱. کانال
۳۱۲. کانال
۳۱۳. کانال
۳۱۴. کانال
۳۱۵. کانال
۳۱۶. کانال
۳۱۷. کانال
۳۱۸. کانال
۳۱۹. کانال
۳۲۰. کانال
۳۲۱. کانال
۳۲۲. کانال
۳۲۳. کانال
۳۲۴. کانال
۳۲۵. کانال
۳۲۶. کانال
۳۲۷. کانال
۳۲۸. کانال
۳۲۹. کانال
۳۳۰. کانال
۳۳۱. کانال
۳۳۲. کانال
۳۳۳. کانال
۳۳۴. کانال
۳۳۵. کانال
۳۳۶. کانال
۳۳۷. کانال
۳۳۸. کانال
۳۳۹. کانال
۳۴۰. کانال
۳۴۱. کانال
۳۴۲. کانال
۳۴۳. کانال
۳۴۴. کانال
۳۴۵. کانال
۳۴۶. کانال
۳۴۷. کانال
۳۴۸. کانال
۳۴۹. کانال
۳۵۰. کانال
۳۵۱. کانال
۳۵۲. کانال
۳۵۳. کانال
۳۵۴. کانال
۳۵۵. کانال
۳۵۶. کانال
۳۵۷. کانال
۳۵۸. کانال
۳۵۹. کانال
۳۶۰. کانال
۳۶۱. کانال
۳۶۲. کانال
۳۶۳. کانال
۳۶۴. کانال
۳۶۵. کانال
۳۶۶. کانال
۳۶۷. کانال
۳۶۸. کانال
۳۶۹. کانال
۳۷۰. کانال
۳۷۱. کانال
۳۷۲. کانال
۳۷۳. کانال
۳۷۴. کانال
۳۷۵. کانال
۳۷۶. کانال
۳۷۷. کانال
۳۷۸. کانال
۳۷۹. کانال
۳۸۰. کانال
۳۸۱. کانال
۳۸۲. کانال
۳۸۳. کانال
۳۸۴. کانال
۳۸۵. کانال
۳۸۶. کانال
۳۸۷. کانال
۳۸۸. کانال
۳۸۹. کانال
۳۹۰. کانال
۳۹۱. کانال
۳۹۲. کانال
۳۹۳. کانال
۳۹۴. کانال
۳۹۵. کانال
۳۹۶. کانال
۳۹۷. کانال
۳۹۸. کانال
۳۹۹. کانال
۴۰۰. کانال
۴۰۱. کانال
۴۰۲. کانال
۴۰۳. کانال
۴۰۴. کانال
۴۰۵. کانال
۴۰۶. کانال
۴۰۷. کانال
۴۰۸. کانال
۴۰۹. کانال
۴۱۰. کانال
۴۱۱. کانال
۴۱۲. کانال
۴۱۳. کانال
۴۱۴. کانال
۴۱۵. کانال
۴۱۶. کانال
۴۱۷. کانال
۴۱۸. کانال
۴۱۹. کانال
۴۲۰. کانال
۴۲۱. کانال
۴۲۲. کانال
۴۲۳. کانال
۴۲۴. کانال
۴۲۵. کانال
۴۲۶. کانال
۴۲۷. کانال
۴۲۸. کانال
۴۲۹. کانال
۴۳۰. کانال
۴۳۱. کانال
۴۳۲. کانال
۴۳۳. کانال
۴۳۴. کانال
۴۳۵. کانال
۴۳۶. کانال
۴۳۷. کانال
۴۳۸. کانال
۴۳۹. کانال
۴۴۰. کانال
۴۴۱. کانال
۴۴۲. کانال
۴۴۳. کانال
۴۴۴. کانال
۴۴۵. کانال
۴۴۶. کانال
۴۴۷. کانال
۴۴۸. کانال
۴۴۹. کانال
۴۵۰. کانال
۴۵۱. کانال
۴۵۲. کانال
۴۵۳. کانال
۴۵۴. کانال
۴۵۵. کانال
۴۵۶. کانال
۴۵۷. کانال
۴۵۸. کانال
۴۵۹. کانال
۴۶۰. کانال
۴۶۱. کانال
۴۶۲. کانال
۴۶۳. کانال
۴۶۴. کانال
۴۶۵. کانال
۴۶۶. کانال
۴۶۷. کانال
۴۶۸. کانال
۴۶۹. کانال
۴۷۰. کانال
۴۷۱. کانال
۴۷۲. کانال
۴۷۳. کانال
۴۷۴. کانال
۴۷۵. کانال
۴۷۶. کانال
۴۷۷. کانال
۴۷۸. کانال
۴۷۹. کانال
۴۸۰. کانال
۴۸۱. کانال
۴۸۲. کانال
۴۸۳. کانال
۴۸۴. کانال
۴۸۵. کانال
۴۸۶. کانال
۴۸۷. کانال
۴۸۸. کانال
۴۸۹. کانال
۴۹۰. کانال
۴۹۱. کانال
۴۹۲. کانال
۴۹۳. کانال
۴۹۴. کانال
۴۹۵. کانال
۴۹۶. کانال
۴۹۷. کانال
۴۹۸. کانال
۴۹۹. کانال
۵۰۰. کانال

۱. کانال
۲. کانال
۳. کانال
۴. کانال
۵. کانال
۶. کانال
۷. کانال
۸. کانال
۹. کانال
۱۰. کانال
۱۱. کانال
۱۲. کانال
۱۳. کانال
۱۴. کانال
۱۵. کانال
۱۶. کانال
۱۷. کانال
۱۸. کانال
۱۹. کانال
۲۰. کانال
۲۱. کانال
۲۲. کانال
۲۳. کانال
۲۴. کانال
۲۵. کانال
۲۶. کانال
۲۷. کانال
۲۸. کانال
۲۹. کانال
۳۰. کانال
۳۱. کانال
۳۲. کانال
۳۳. کانال
۳۴. کانال
۳۵. کانال
۳۶. کانال
۳۷. کانال
۳۸. کانال
۳۹. کانال
۴۰. کانال
۴۱. کانال
۴۲. کانال
۴۳. کانال
۴۴. کانال
۴۵. کانال
۴۶. کانال
۴۷. کانال
۴۸. کانال
۴۹. کانال
۵۰. کانال
۵۱. کانال
۵۲. کانال
۵۳. کانال
۵۴. کانال
۵۵. کانال
۵۶. کانال
۵۷. کانال
۵۸. کانال
۵۹. کانال
۶۰. کانال
۶۱. کانال
۶۲. کانال
۶۳. کانال
۶۴. کانال
۶۵. کانال
۶۶. کانال
۶۷. کانال
۶۸. کانال
۶۹. کانال
۷۰. کانال
۷۱. کانال
۷۲. کانال
۷۳. کانال
۷۴. کانال
۷۵. کانال
۷۶. کانال
۷۷. کانال
۷۸. کانال
۷۹. کانال
۸۰. کانال
۸۱. کانال
۸۲. کانال
۸۳. کانال
۸۴. کانال
۸۵. کانال
۸۶. کانال
۸۷. کانال
۸۸. کانال
۸۹. کانال
۹۰. کانال
۹۱. کانال
۹۲. کانال
۹۳. کانال
۹۴. کانال
۹۵. کانال
۹۶. کانال
۹۷. کانال
۹۸. کانال
۹۹. کانال
۱۰۰. کانال
۱۰۱. کانال
۱۰۲. کانال
۱۰۳. کانال
۱۰۴. کانال
۱۰۵. کانال
۱۰۶. کانال
۱۰۷. کانال
۱۰۸. کانال
۱۰۹. کانال
۱۱۰. کانال
۱۱۱. کانال
۱۱۲. کانال
۱۱۳. کانال
۱۱۴. کانال
۱۱۵. کانال
۱۱۶. کانال
۱۱۷. کانال
۱۱۸. کانال
۱۱۹. کانال
۱۲۰. کانال
۱۲۱. کانال
۱۲۲. کانال
۱۲۳. کانال
۱۲۴. کانال
۱۲۵. کانال
۱۲۶. کانال
۱۲۷. کانال
۱۲۸. کانال
۱۲۹. کانال
۱۳۰. کانال
۱۳۱. کانال
۱۳۲. کانال
۱۳۳. کانال
۱۳۴. کانال
۱۳۵. کانال
۱۳۶. کانال
۱۳۷. کانال
۱۳۸. کانال
۱۳۹. کانال
۱۴۰. کانال
۱۴۱. کانال
۱۴۲. کانال
۱۴۳. کانال
۱۴۴. کانال
۱۴۵. کانال
۱۴۶. کانال
۱۴۷. کانال
۱۴۸. کانال
۱۴۹. کانال
۱۵۰. کانال
۱۵۱. کانال
۱۵۲. کانال
۱۵۳. کانال
۱۵۴. کانال
۱۵۵. کانال
۱۵۶. کانال
۱۵۷. کانال
۱۵۸. کانال
۱۵۹. کانال
۱۶۰. کانال
۱۶۱. کانال
۱۶۲. کانال
۱۶۳. کانال
۱۶۴. کانال
۱۶۵. کانال
۱۶۶. کانال
۱۶۷. کانال
۱۶۸. کانال
۱۶۹. کانال
۱۷۰. کانال
۱۷۱. کانال
۱۷۲. کانال
۱۷۳. کانال
۱۷۴. کانال
۱۷۵. کانال
۱۷۶. کانال
۱۷۷. کانال
۱۷۸. کانال
۱۷۹. کانال
۱۸۰. کانال
۱۸۱. کانال
۱۸۲. کانال
۱۸۳. کانال
۱۸۴. کانال
۱۸۵. کانال
۱۸۶. کانال
۱۸۷. کانال
۱۸۸. کانال
۱۸۹. کانال
۱۹۰. کانال
۱۹۱. کانال
۱۹۲. کانال
۱۹۳. کانال
۱۹۴. کانال
۱۹۵. کانال
۱۹۶. کانال
۱۹۷. کانال
۱۹۸. کانال
۱۹۹. کانال
۲۰۰. کانال
۲۰۱. کانال
۲۰۲. کانال
۲۰۳. کانال
۲۰۴. کانال
۲۰۵. کانال
۲۰۶. کانال
۲۰۷. کانال
۲۰۸. کانال
۲۰۹. کانال
۲۱۰. کانال
۲۱۱. کانال
۲۱۲. کانال
۲۱۳. کانال
۲۱۴. کانال
۲۱۵. کانال
۲۱۶. کانال
۲۱۷. کانال
۲۱۸. کانال
۲۱۹. کانال
۲۲۰. کانال
۲۲۱. کانال
۲۲۲. کانال
۲۲۳. کانال
۲۲۴. کانال
۲۲۵. کانال
۲۲۶. کانال
۲۲۷. کانال
۲۲۸. کانال
۲۲۹. کانال
۲۳۰. کانال
۲۳۱. کانال
۲۳۲. کانال
۲۳۳. کانال
۲۳۴. کانال
۲۳۵. کانال
۲۳۶. کانال
۲۳۷. کانال
۲۳۸. کانال
۲۳۹. کانال
۲۴۰. کانال
۲۴۱. کانال
۲۴۲. کانال
۲۴۳. کانال
۲۴۴. کانال
۲۴۵. کانال
۲۴۶. کانال
۲۴۷. کانال
۲۴۸. کانال
۲۴۹. کانال
۲۵۰. کانال
۲۵۱. کانال
۲۵۲. کانال
۲۵۳. کانال
۲۵۴. کانال
۲۵۵. کانال
۲۵۶. کانال
۲۵۷. کانال
۲۵۸. کانال
۲۵۹. کانال
۲۶۰. کانال
۲۶۱. کانال
۲۶۲. کانال
۲۶۳. کانال
۲۶۴. کانال
۲۶۵. کانال
۲۶۶. کانال
۲۶۷. کانال
۲۶۸. کانال
۲۶۹. کانال
۲۷۰. کانال
۲۷۱. کانال
۲۷۲. کانال
۲۷۳. کانال
۲۷۴. کانال
۲۷۵. کانال
۲۷۶. کانال
۲۷۷. کانال
۲۷۸. کانال
۲۷۹. کانال
۲۸۰. کانال
۲۸۱