

## راهنمای کیت F2 RG

کیت F2 RG جهت کار با دستگاه Rotor-Gen و به منظور تشخیص تشخیص جهش G20210A در ژن پروترومبین در DNA انسانی به روش Real-Time PCR می باشد. این کیت جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

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

| برچسب       | محتوا               | حجم           |
|-------------|---------------------|---------------|
| F2 Mix      | میکس آماده برای PCR | ۴۸۰ میکرولیتر |
| MM Pos Ctrl | شاهد مثبت هموزیگوت  | ۵۰ میکرولیتر  |
| MW Pos Ctrl | شاهد مثبت هتروزیگوت | ۵۰ میکرولیتر  |
| WW Neg Ctrl | شاهد منفی           | ۵۰ میکرولیتر  |
| Water       | آب مخصوص PCR        | ۲۰۰ میکرولیتر |

تمامی مواد کیت باید در دمای ۱۰ تا ۳۰ درجه زیر صفر نگهداری شوند.

**روش استفاده:** تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، ۲ لوله برای شاهد های مثبت، ۱ لوله برای شاهد منفی و ۱ لوله برای آب نیز در نظر بگیرید. به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **F2 Mix** و سپس ۵ میکرولیتر از **DNA نمونه** و یا **شاهد** یا آب اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید. سپس آن ها را داخل دستگاه قرار دهید.

**تنظیم دستگاه:** برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می توانید 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     |
|      | 55°C x 30 sec*       |        |
|      | 72°C x 15 sec        |        |
| 3    | 95°C x 15 sec        | 1      |
| 4    | 40°C x 10 min        | 1      |
| 5    | Melt<br>42°C-75°C *  | 1      |

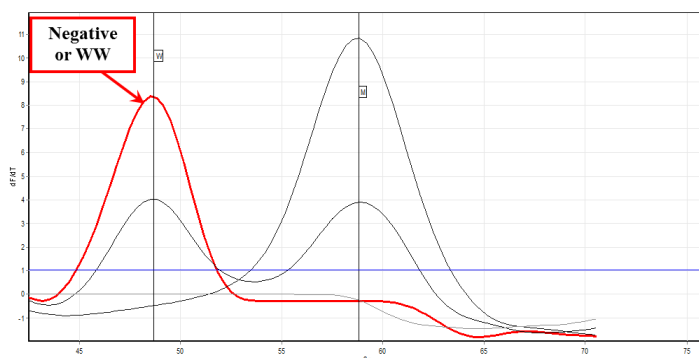
تابش فلورسانس باید در مرحله‌ای که با ستاره مشخص شده اند و برای رنگ FAM ثبت شود. PCR Mix موجود در کیت فاقد ROX می باشد.

**آنالیز نتایج:** برای آنالیز نتایج به راهنمای Rotor-Gene مراجعه کنید. به طور خلاصه از منوی Melt Analysis، Melt را انتخاب کرده و روی Melt A Green دوبار کلیک کنید. **قله** سمت چپ (۴۸ تا ۴۹ درجه) نماینده آلل طبیعی (W) و **قله سمت راست (۵۸ تا ۵۹ درجه)** نماینده آلل جهش یافته (M) یا G20210A می باشد.

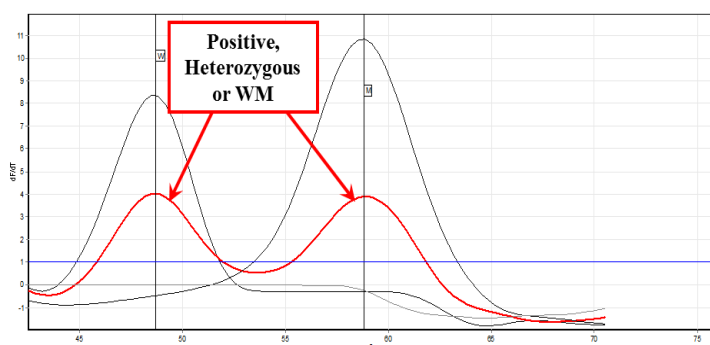
نتایج را با توجه به نکات زیر تفسیر کنید:

| قله ۴۸-۴۹°C | قله ۵۸-۵۹°C | Result               |
|-------------|-------------|----------------------|
| +           | -           | هموزیگوت سالم (WW)   |
| +           | +           | هتروزیگوت (MW)       |
| -           | +           | هموزیگوت موتانت (MM) |
| -           | -           | Invalid              |

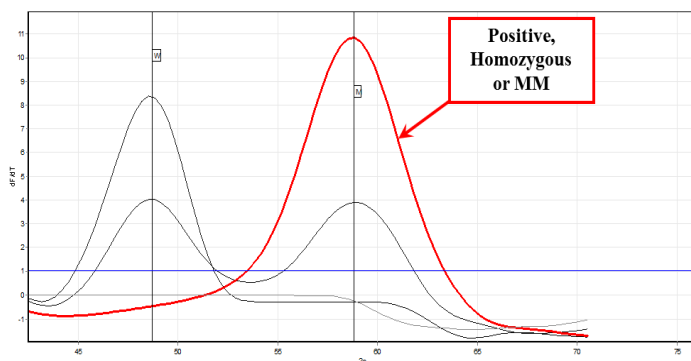
در تصاویر ۱، ۲ و ۳، نتایج منحنی مربوط به هر یک از انواع نمونه ها نشان داده شده است



تصویر ۱: منحنی مربوط به نمونه منفی یا WW



تصویر ۲: منحنی مربوط به نمونه مثبت هتروزیگوت یا WM



تصویر ۳: منحنی مربوط به نمونه مثبت هموزیگوت یا MM

برای توضیحات بیشتر و دریافت فایل کامل دفترچه راهنمای کیت و فایل  
 تمپلیت برای تنظیم دستگاه، به وبسایت ما به نشانی [www.novingene.com](http://www.novingene.com)  
 مراجعه فرمایید یا با پشتیبانی تماس بگیرید.