

راهنمای کیت PAI-1 RQ

کیت PAI-1 RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene و StepOne به جهت تشخیص پلی مورفیسم 4G/5G مربوط به PAI-1 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
PAI-1 RQ Mix	میکس آماده برای PCR	۴۸۰ میکرولیتر
4G/4G Ctrl	شاهد هموزیگوت 4G/4G	۱۰۰ میکرولیتر
4G/5G Ctrl	شاهد هتروزیگوت 4G/5G	۱۰۰ میکرولیتر
5G/5G Ctrl	شاهد هموزیگوت 5G/5G	۱۰۰ میکرولیتر
water	آب مخصوص PCR	۲۰۰ میکرولیتر

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

کنترل داخلی: در آزمایش فاکتور PAI-1 4G/5G هر یک از دو آلل طبیعی یا جهش یافته می تواند به عنوان کنترل داخلی عمل کند زیرا هر فردی حامل یک و یا هر دو نوع این پلی مورفیسم می باشد و بنابراین همیشه باید نتیجه این آزمایش حداقل برای یکی از آن ها مثبت باشد. در صورتی که فردی برای هر دو نوع پلی مورفیسم 4G یا 5G منفی باشد، آزمایش ناموفق بوده و باید تکرار شود.

روش استفاده: تعداد مورد نیاز لوله PCR روی بلوک سرد بگذارید. علاوه بر تعداد نمونه های مورد آزمایش، سه لوله برای شاهد های هتروزیگوت و هموزیگوت و یک لوله

نیز برای آب در نظر بگیرید. به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **PAI-1 RQ Mix** اضافه کنید. سپس ۵ میکرولیتر از **نمونه** و یا **شاهد** یا آب به هر لوله اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید. سپس آن ها را مطابق شماره ها داخل دستگاه قرار دهید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene یا StepOne از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می توانید سایر دستگاه ها را مطابق برنامه زیر تنظیم نمایید.

Step	Temperature and time	Cycles
1	95°C x 10 min	1
2	95°C x 15 sec	50
	65°C x 40 sec	

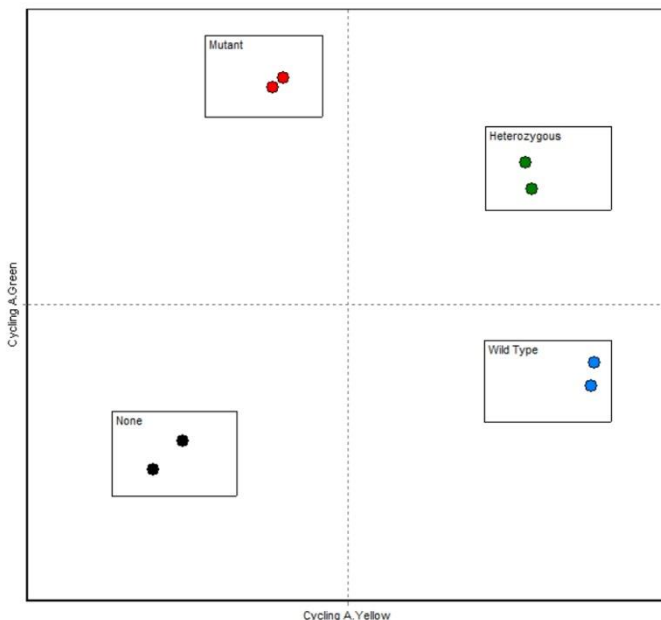
اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۶۵ درجه و برای رنگ های FAM و VIC تنظیم شود. PAI-1 RQ Mix حاوی ROX است. غلظت نهایی ROX در واکنش 300nM می باشد.

آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که تشخیص ژنوتایپ نمونه ها در صورتی ممکن است که هر سه شاهد کیت و آب یا شاهد بدون DNA در آزمایش استفاده شده باشند.

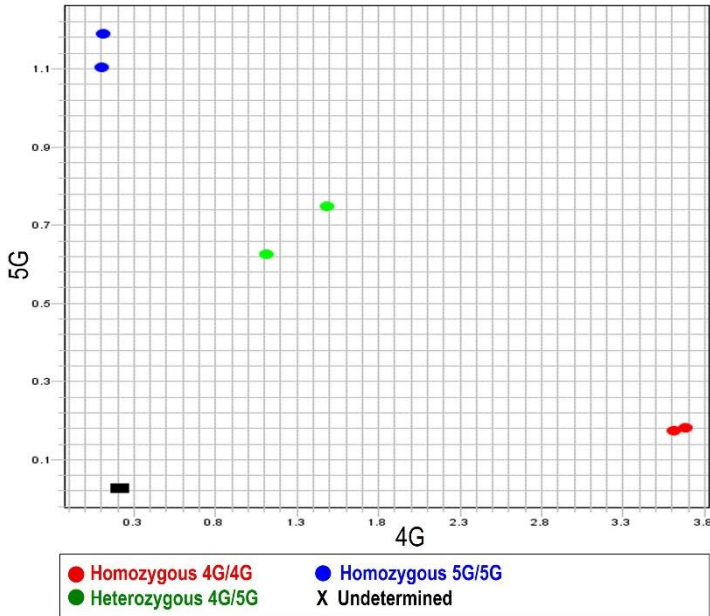
برای آنالیز نتایج روتورژن، از منوی Analysis گزینه other و سپس Scatter Graph Analysis را انتخاب کنید. سپس با استفاده از دکمه Ctrl هر دو کانال Green و Yellow را انتخاب کرده و بر روی گزینه Show کلیک کنید.

برای آنالیز نتایج دستگاه استپ وان، بر روی دکمه Analysis کلیک کرده و سپس گزینه Allelic Discrimination را انتخاب کنید. در قسمت Plate Setup. Assign را انتخاب کرده و برای هر یک از شاهد ها، در قسمت Task آل مرتب را انتخاب کنید. در این صورت نرم افزار، پس از آنالیز، ژنوتایپ هر یک از نمونه ها را با توجه به شاهد ها تعیین و با رنگ مربوطه نشان می دهد.

برای ملاحظه نمودار مورد انتظار شاهد ها به تصاویر زیر مراجعه کنید. در هر نمودار محور عمودی میزان فلورسانس FAM/Green را نشان می‌دهد که به آلل 4G اختصاص دارد. محور افقی نیز میزان فلورسانس VIC/Yellow را نشان می‌دهد که مختص آلل 5G است. تابش FAM/Green برای نمونه های هموزیگوت 4G/4G چند برابر تابش VIC/Yellow می باشد و این نمونه ها در ناحیه چپ و بالای نمودار یا شمال غربی تجمع پیدا می‌کنند. در مقابل تابش VIC/Yellow برای نمونه های 5G/5G چند برابر تابش FAM/Green است و این نمونه ها در سمت راست و پایین نمودار یا جنوب شرقی مشاهده خواهند شد. در نمونه های هتروزیگوت یا 5G/4G تابش FAM/Green و VIC/Yellow تقریباً متناسب بوده و این نمونه ها در سمت راست و بالای نمودار یا شمال شرقی قرار می‌گیرند. نهایتاً نمونه بدون DNA یا نمونه آب در هر دو کانال دارای تابش اندکی بوده و این نمونه ها در ناحیه سمت چپ پایین نمودار یا جنوب غربی دیده می‌شوند.



شکل ۱. نمایش چگونگی پراکندگی نمونه‌ها در نمودار نقطه ای دستگاه روتورژن



شکل ۲. نمایش پراکندگی نمونه‌ها در نمودار نقطه ای دستگاه استپ وان

توضیحات برچسب:

دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید	تولید کننده	جهت مصارف پژوهشی	RUO
تاریخ انقضاء	تعداد $n >$ آزمون کافی	کدبهر (شماره بچ)	LOT
محدوده دمایی -30°C	شماره سریال	شماره کاتالوگ	REF

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت‌های نوین ژن، دریافت فایل کامل دفترچه راهنمای کیت و فایل تمپلیت برای تنظیم دستگاه و آشنایی با نمایندگان فروش، به وبسایت ما به نشانی www.novingene.com مراجعه فرمایید یا QR Code موجود بر روی جعبه کیت را اسکن نمایید. جهت کسب اطلاعات بیشتر با پشتیبانی فنی تماس بگیرید.