

راهنمای کیت F2 RQ

کیت F2 RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne، و MIC به منظور تشخیص جهش مربوط به پروترومبین یا فاکتور ۲ (G20210A) 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 RQ Mix	میکس آماده برای PCR	۴۸۰ میکرولیتر
ThrmB MM Ctrl	شاهد مثبت هموزیگوت	۱۰۰ میکرولیتر
ThrmB WM Ctrl	شاهد مثبت هتروزیگوت	۱۰۰ میکرولیتر
ThrmB WW Ctrl	شاهد منفی (هموزیگوت سالم)	۱۰۰ 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 RQ 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 مطابق شماره ها داخل دستگاه قرار دهید.

توجه داشته باشید تعیین ژنوتایپ نمونه ها تنها در صورتی ممکن خواهد بود که هر چهار شاهد **MM**، **WM**، **WW** و آب یا شاهد بدون **DNA** در آزمایش استفاده شده باشند.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene، StepOne و MIC از فایل تمپلیت مخصوص این کیت استفاده کنید. همچنین می‌توانید 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	45
	58°C x 40 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۵۸ درجه و برای رنگ های FAM و VIC تنظیم شود. F2 RQ Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 300nM می‌باشد.

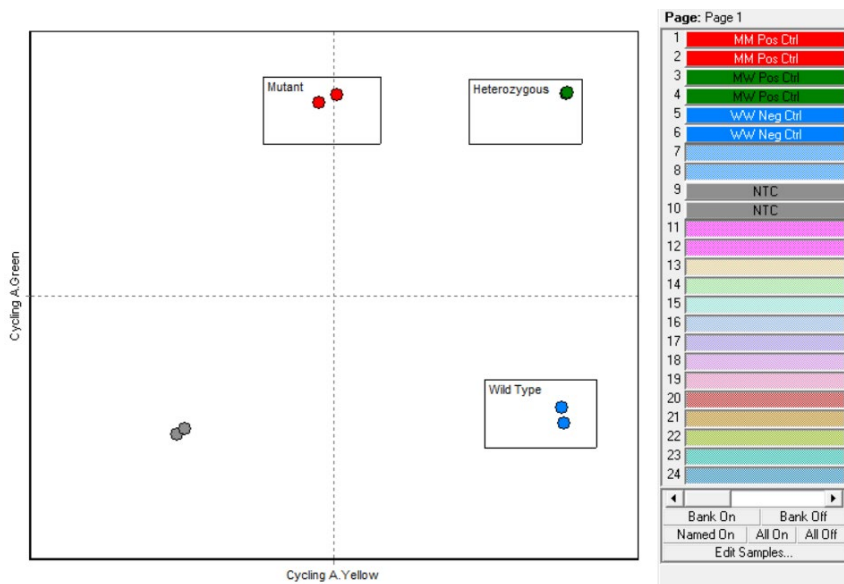
آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که تشخیص ژنوتایپ نمونه ها در صورتی ممکن است که هر سه شاهد کیت و آب یا شاهد بدون DNA در آزمایش استفاده شده باشند.

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.

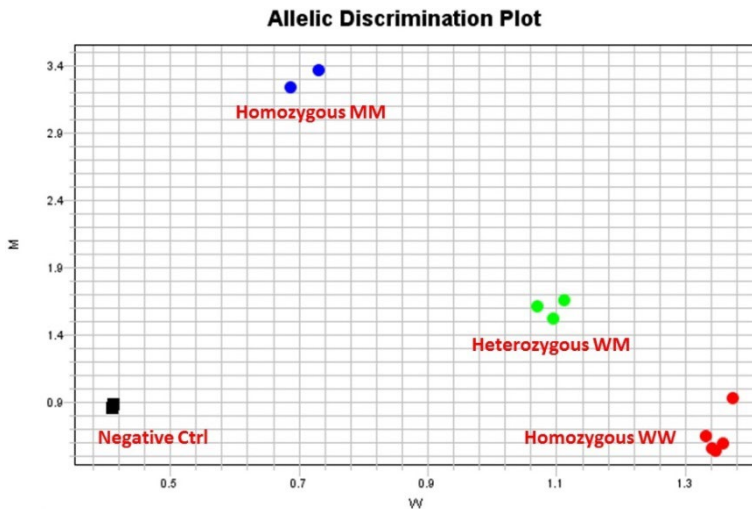
برای آنالیز نتایج دستگاه استپ وان، بر روی دکمه Analysis کلیک کرده و سپس گزینه Allelic Discrimination را انتخاب کنید. نرم افزار دستگاه با مقایسه میزان فلورسانس نمونه ها و شاهد ها، ژنوتایپ نمونه ها را تعیین می‌کند. توجه بفرمایید در قسمت set-up آلل های MM، WM و WW باید تعریف شده باشد.

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 M یا موتانت اختصاص دارد. محور افقی نیز میزان فلورسانس VIC/Yellow را نشان می‌دهد که مختص آلل W یا طبیعی است. تابش FAM/Green برای نمونه های هموزیگوت MM چند برابر تابش VIC/Yellow می‌باشد و این نمونه ها در ناحیه چپ و بالای نمودار یا شمال غربی تجمع

پیدا می‌کنند. در مقابل تابش VIC/Yellow برای نمونه های سالم یا هموزیگوت WW 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 WM تابش FAM/Green و VIC/Yellow تقریباً متناسب بوده و این نمونه ها در سمت راست و بالای نمودار یا شمال شرقی قرار می گیرند. 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 می شوند.



تصویر ۱. نمایش چگونگی پراکندگی انواع نمونه ها در نمودار دستگاه Rotor-Gene



تصویر ۲. نمایش چگونگی پراکندگی انواع نمونه ها در نمودار دستگاه StepOne

توضیحات برچسب:

دستورالعمل برای استفاده را بررسی نمایید	تولید کننده	جهت مصارف پژوهشی
تاریخ انقضاء	تعداد $<n>$ آزمون کافی	کدبهر (شماره بچ)
محدوده دمایی	شماره سریال	شماره کاتالوگ

جهت توضیحات بیشتر در مورد کیت های 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.