

راهنمای کیت MTHFR-1298 RQ

کیت MTHFR-1298 RQ جهت کار با دستگاه های Rotor-Gene، StepOne و MIC به منظور تشخیص جهش MTHFR A1298C 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
MTHFR Mix	میکس آماده برای PCR	۴۸۰ میکرولیتر
ThrmB MM	شاهد مثبت هموزیگوت	۱۰۰ میکرولیتر
ThrmB WM	شاهد مثبت هتروزیگوت	۱۰۰ میکرولیتر
ThrmB WW	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، چهار لوله نیز برای شاهد های مثبت و منفی نیز در نظر بگیرید.

به هر لوله ۲۰ میکرولیتر از **MTHFR Mix** و سپس ۵ میکرولیتر از **DNA نمونه** و یا

شاهد یا آب اضافه کنید.

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 دستگاه را مطابق جدول صفحه بعد تنظیم نمایید.

Step	Temperature and time	Cycles
1	95°C x 3 min	1
2	95°C x 15 sec	50
	57°C x 40 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۵۷ درجه و برای رنگ های FAM و VIC تنظیم شود. PCR Mix موجود در کیت حاوی ROX می باشد. غلظت نهایی ROX در واکنش 300nM می باشد.

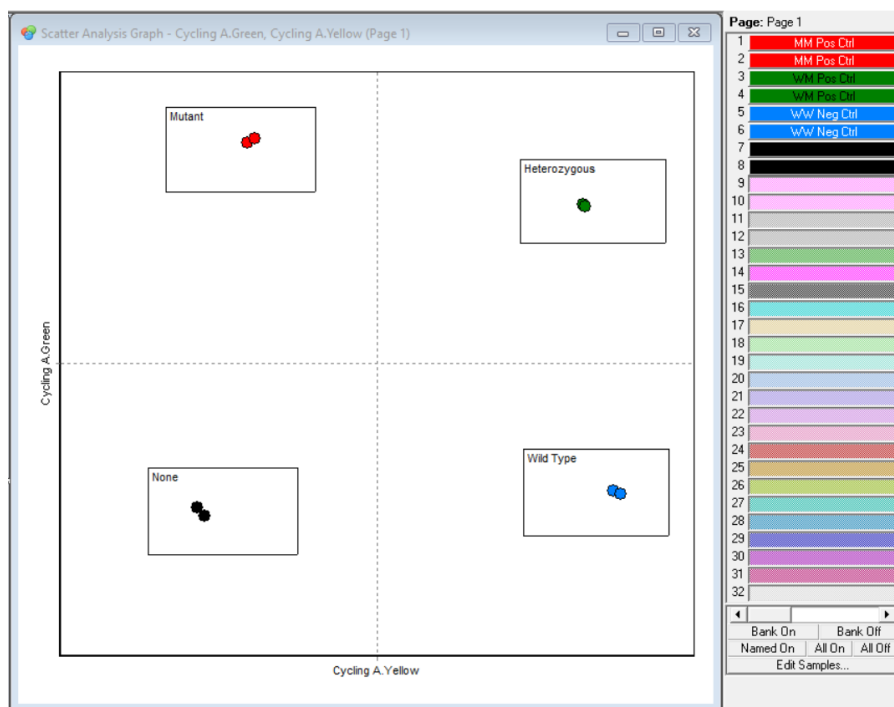
آنالیز نتایج: توجه داشته باشید که تشخیص ژنوتایپ نمونه ها در صورتی ممکن است که هر سه شاهد کیت و آب یا شاهد بدون DNA در آزمایش استفاده شده باشند.

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.

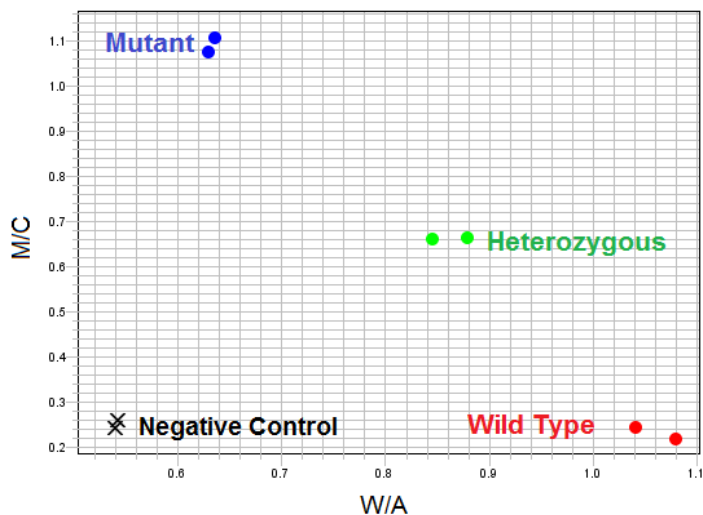
برای آنالیز نتایج دستگاه استپ وان، بر روی دکمه Analysis کلیک کرده و سپس گزینه Allelic Discrimination را انتخاب کنید. نرم افزار دستگاه با مقایسه میزان فلورسانس نمونه ها و شاهد ها، ژنوتایپ نمونه ها را تعیین می کند. برای ملاحظه نمودار مورد انتظار شاهد ها به تصاویر ۱ و ۲ مراجعه کنید.

در هر نمودار محور عمودی میزان فلورسانس FAM/Green را نشان می دهد که به آلل M یا موتانت اختصاص دارد. محور افقی نیز میزان فلورسانس VIC/Yellow را نشان می دهد که مختص آلل W یا طبیعی است. تابش FAM/Green برای نمونه های هموزیگوت MM چند برابر تابش VIC/Yellow می باشد و این نمونه ها در ناحیه چپ و بالای نمودار یا شمال غربی تجمع پیدا می کنند. 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 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 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	RUO
تاریخ انقضاء	تعداد <n> آزمون کافی	کدبهر (شماره بچ)	LOT
محدوده دمایی	شماره سریال	شماره کاتالوگ	REF

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.