

راهنمای کیت MTHFR 677 RQ

کیت MTHFR 677 RQ به منظور تشخیص جایگزینی MTHFR C677T در DNA انسانی به روش Real-Time PCR می‌باشد. این کیت برای کار با دستگاه های StepOne Rotor-Gene و MIC و به جهت مصارف تحقیقاتی طراحی شده است.

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

| برچسب | محتوا | حجم |
|---------------|---------------------------|---------------|
| MTHFR 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، ۳ لوله برای شاهد ها و ۱ لوله برای آب در نظر بگیرید.

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

و یا **شاهد** یا آب اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید و آنها را داخل دستگاه بگذارید.

تنظیم دستگاه: برای تنظیم دستگاه Rotor-Gene یا StepOne از فایل تمپلیت 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. PCR Mix موجود در کیت حاوی ROX با غلظت نهایی 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.

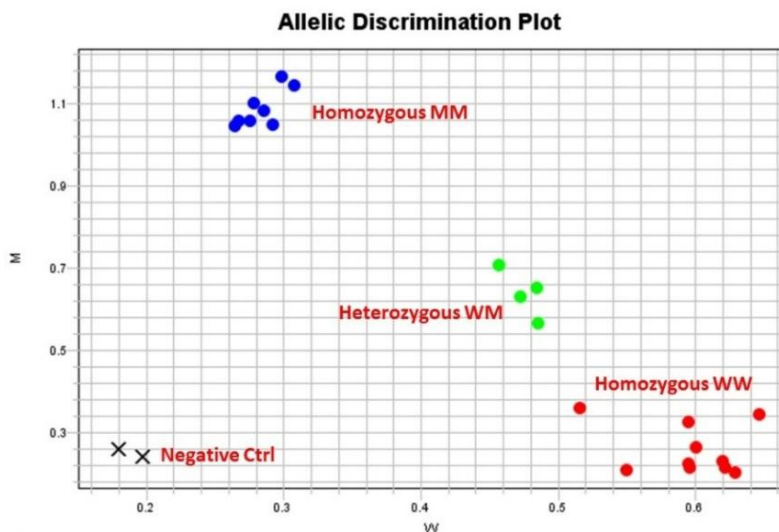
برای آنالیز نتایج دستگاه استپ وان، بر روی دکمه Analysis کلیک کرده و سپس گزینه Allelic Discrimination را انتخاب کنید. در نظر داشته باشید در قسمت Setup آلل های MM، WM و WW باید تعریف شده باشد.

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 زیر 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 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 Rotor-Gene



تصویر ۲. نمایش چگونگی پراکندگی انواع نمونه ها در نمودار 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 |  -30°C / 10°C | شماره سریال | SN | 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.