

راهنمای کیت Thrombo4X

کیت Thrombo4X جهت تشخیص جهش‌های مربوط به پروترومبین یا فاکتور ۲ (G20210A)، فاکتور ۵ لیدن (G1691A)، MTHFR (C677T) و MTHFR (A1298C) در DNA انسانی می‌باشد. این کیت مخصوص استفاده تحقیقاتی است و برای دستگاه Rotor-Gene و MIC طراحی شده است.

محتویات کیت: این کیت شامل یک راهنما و مواد زیر می‌باشد:

برچسب	محتوا	حجم
F2-F5 Mix	میکس آماده برای فاکتورهای ۲ و ۵ *	۴۸۰ میکرولیتر
MTHFR Mix	میکس آماده برای MTHFR A1298C, MTHFR C677T *	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.

کنترل داخلی: با توجه به اینکه پلی مرفیسم ژن فاکتور ۲، فاکتور ۵ و MTHFR در این کیت بررسی می‌شود و هر فرد حامل ژن‌های طبیعی یا جهش یافته و یا هر دوی آنها می‌باشد، بنابراین همیشه باید نتیجه این آزمایش دست کم برای یکی از انواع طبیعی یا جهش یافته ژن مثبت باشد. در نتیجه این آلل‌ها خود به عنوان کنترل داخلی این آزمایش عمل می‌کنند. در صورتی که فردی برای هر دو آلل طبیعی و جهش یافته منفی باشد، واکنش ناموفق بوده و آزمایش باید تکرار شود.

روش استفاده: ابتدا تمامی لوله ها را روی یخ خرد شده قرار دهید تا بطور کامل محتویات آنها ذوب شوند. با چند تکان ملایم از مخلوط شدن آنها اطمینان حاصل کرده و برای چند ثانیه آنها را در دور پایین سانتریفیوژ کنید.

این کیت حاوی دو میکس می باشد. میکس **F2-F5** برای تشخیص آلل های فاکتور ۲ و ۵ و میکس **MTHFR** برای تشخیص آلل های MTHFR677, MTHFR1298. برای هر میکس یک سری لوله جداگانه قرار دهید. در هر سری علاوه بر یک لوله برای نمونه ی هر بیمار، چهار لوله نیز برای کنترل های WW و WM و MM و آب در نظر بگیرید. تعداد مورد نیاز لوله ها را روی بلوک آلومینیوم سرد بگذارید.

به هر لوله سری اول، ۲۰ میکرولیتر از **F2-F5 Mix** و به هر لوله سری دوم، ۲۰

میکرولیتر از **MTHFR Mix** اضافه نمایید. سپس ۵ میکرولیتر از **DNA نمونه** و یا

کنترل ها یا آب به هر لوله اضافه کنید و درپوش لوله ها را ببندید. سپس آنها را مطابق

شماره ها 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	45
	57°C x 30 sec	

اندازه گیری تابش فلورسانس باید در دمای ۵۷ درجه و برای رنگ های FAM, VIC, ROX و Cy5 تنظیم شود.

آنالیز نتایج: آنالیز نتایج بر اساس واکنش یا عدم واکنش نمونه در کانال های مختلف انجام می شود.

به طور خلاصه هنگام استفاده از میکس F2-F5 آلل طبیعی فاکتور پنج در کانال VIC و آلل جهش یافته آن در کانال FAM واکنش نشان می دهد. همزمان با همین میکس آلل

طبیعی فاکتور دو در کانال ROX و آلل جهش یافته آن در کانال Cy5 واکنش می‌دهد. همچنین با میکس MTHFR آلل طبیعی MTHFR1298 در کانال VIC و آلل جهش یافته در کانال FAM واکنش نشان می‌دهد. با همین میکس آلل طبیعی MTHFR677 در کانال ROX و آلل جهش یافته آن در کانال Cy5 واکنش خواهد داشت. موارد فوق به طور خلاصه در جدول زیر ذکر شده است.

Mix	Target	FAM	VIC	Cy5	ROX	Results
F2-F5 Mix	F5	+	-			F5 MM
		+	+			F5 WM
		-	+			F5 WW
	F2			+	-	F2 MM
				+	+	F2 WM
				-	+	F2 WW
MTHFR Mix	1298	+	-			1298 MM
		+	+			1298 WM
		-	+			1298 WW
	677			+	-	677 MM
				+	+	677 WM
				-	+	677 WW
		-	-	-	-	NTC



این تست را به دو روش می‌توان آنالیز نمود:

(الف) آنالیز با بررسی نمودار پراکندگی (Scatter Graph)

(ب) آنالیز با بررسی فلورسانس نهایی (EndPoint)

توجه نمایید آنالیز به روش های فوق به صورت کامل در دفترچه راهنما توضیح داده شده است.

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

برای توضیحات بیشتر و کسب اطلاع در مورد کیت های جدید نوین ژن، دریافت
فایل کامل دفترچه راهنمای کیت و فایل تمپلیت برای تنظیم دستگاه به وبسایت
ما به نشانی www.novingene.com مراجعه فرمایید یا با پشتیبانی تماس بگیرید.
همچنین از طریق این وب سایت می توانید با نمایندگی های فروش ما آشنا شوید.