

KBC Aneuquick VIII Kit



تشخیص سریع اختلالات عددی شایع کروموزومی (آنیوپلوئیدی) قبل از تولد

شماره کاتالوگ: K3011

روش QF-PCR:

این روش برای تشخیص سریع اختلالات عددی شایع کروموزومی (۱۳، ۱۸، ۲۱، X و Y) به کار می‌رود. توالی کوتاه تکرار شونده‌ای (STR)، که در طول این کروموزومها پراکنده هستند، توسط PCR تکثیر شده و نتیجه نهایی، با استفاده از کپیلاری الکتروفورز مشخص می‌گردد.

کیت KBC Aneuquick VIII Kit:

این کیت محتوی ۲۶ مارکر (۲۱ مارکر STR با هتروزیگوسیتی بالا و ۴ مارکر برای تعیین جنسیت و ناهنجاری کروموزومهای جنسی) می‌باشد. آنالیز همزمان ۲۶ محل (در یک واکنش)، نیاز به استفاده از مارکرهای دیگر را برطرف می‌نماید. اگرچه کیت‌های اختصاصی برای هر کروموزوم نیز از دیگر محصولات شرکت زیست فناوری کوثر می‌باشد.

تعداد مارکرها برای هر کروموزوم							
Chromosome	13	18	21	X	Y	X/Y	Turner syndrome
Marker	5	5	6	5	2	2	1

شرایط نگهداری و روش استفاده:

- از آنجایی که پرایمرها با رنگ فلئوئورسانت نشاندار شده‌اند؛ بنابراین از قرار دادن آن‌ها در مقابل نور مستقیم خودداری شود.
- چنانچه دفعات انجماد و ذوب این کیت زیاد باشد، کیفیت نتایج کاهش خواهد یافت، بنابراین بهتر است مواد را در حجم‌های کمتر نگهداری نمایید.
- نکته مهم:** این کیت محتوی مواد حساس به گرما از جمله پرایمر، آنزیم و dNTP می‌باشد، لذا آماده سازی نمونه‌ها باید روی یخ انجام شود.
- ابتدا همه مواد موجود در کیت را در دمای اتاق قرار دهید، تا ذوب شوند.
- همه مواد را ۲ ثانیه vortex و سپس spin نمایید (از vortex طولانی خودداری نمایید).
- سپس مطابق جدول زیر، به ازای هر واکنش از مواد استفاده نمایید.
- مقدار لازم از DNA یا یک پانچ ۱/۲ میلی‌متری از کارت نگهداری خون را به یک میکروتیوب ۲۰۰ میکرولیتری اضافه نمایید. هر آزمایشگاهی با توجه به روش و کیفیت استخراج DNA برای دست یافتن به بهترین نتیجه ممکن است مقادیر متفاوتی از DNA استفاده نماید.
- کیت حاوی نمونه کنترل مثبت (K5027) می‌باشد که در صورت نیاز ۱ میکرولیتر از آن استفاده شود.
- سپس به اندازه‌ای آب اضافه نمایید، که حجم نهایی ۱۸ میکرولیتر شود.
- همه مواد را ۲ ثانیه vortex و سپس spin نمایید (از vortex طولانی خودداری نمایید).

نام ماده	مقدار لازم برای هر واکنش
 PCR Mix	5 µl
 Primer Mix	1 µl
 Taq Polymerase	1 µl

- برنامه PCR را مطابق با جدول زیر به دستگاه ترموسایکلر داده و نمونه‌ها را در دستگاه قرار دهید (بهتر است از تیوب هایی با درب محکم ضد تبخیر استفاده نمائید).

Pre-Denaturation	Cycling			Final Extension	
95 °C	95 °C	63 °C	70 °C	70 °C	4 °C
5 min	1min	90 Sec	2 min	17 min	∞
30 cycles					

جهت حصول اطمینان از عملکرد مناسب PCR می توانید پیش از انجام کپیلاری الکتروفورز حداقل 5 الی 10 محصول PCR را در ژل الکتروفورز نمائید.

نکات مهم:

- اگرچه محصول PCR یک شب در دمای اتاق ماندگاری دارد، اما با توجه به فلوروسانت بودن محصول، بهتر است قبل از الکتروفورز آنرا در محیطی تاریک و در یخچال نگهداری نمایید.
- اگر بیش از یک هفته پس از اتمام واکنش PCR تا آغاز انجام کپیلاری الکتروفورز زمان صرف شود، ممکن است کیفیت نتایج کاهش بیابد.
- با توجه به نوع و مقدار DNA مورد استفاده، ممکن است لازم شود تعداد سیکل برنامه را تغییر دهید تا بهترین نتیجه را به دست آورید.
- واکنش‌های فلوروسانت زنجیره‌ای پلیمراز از جمله واکنش‌های حساس به مقدار بسیار اندکی DNA می‌باشند. بنابراین محل تخلیص DNA، آماده سازی مواد برای PCR و استفاده از محصول PCR باید از هم جدا باشند و شرایط مناسب برای انجام PCR طبق استانداردهای ملی و بین المللی رعایت شود و فضای پیش و پس از PCR از هم جدا شوند و در هر مرحله از واکنش از کنترل منفی نیز استفاده شود.
- **اخطار:** هرگز درب تیوب‌های حاوی محصول PCR را در مجاورت مواد و محلول‌های کیت و محلی که مواد را برای واکنش PCR آماده می‌نمائید، باز ننمائید. چگونگی دفع محصول PCR اضافی بستگی به قوانین خاص آزمایشگاه دارد.

انجام کپیلاری الکتروفورز و آنالیز نمونه‌ها:

- کیت **KBC Aneuquick VIII** برای استفاده توسط دستگاه **ABI** ساخته شده است که قدرت تفکیک ۵ رنگ را داشته باشد (Five-dye fragment analysis)، مانند دستگاه **Genetic Analyzer 3130 , 3130XL** و دستگاه‌های جدیدتر شرکت **ABI**.
- **نکته:** پیش از انجام کار اطمینان حاصل نمائید که نرم افزار **ABI Data Collection** مورد استفاده شما از **Five-dye fragment analyzer** پشتیبانی نماید.
- دستگاه را با **LIZ , PET , NED, VIC, 6-FAM** کالیبره نموده و پس از آماده سازی نمونه ها، آن ها را در دستگاه **Genetic Analyzer** قرار دهید.
- از **GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard** برای خوانش نمونه ها استفاده شود.
- برای آماده سازی نمونه های برای ورود به دستگاه به ازای هر نمونه ۹/۵ ماکرولیترا از **HiDi Formamid** و ۰/۵ ماکرولیترا از **GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard** به همراه ۱ تا ۲ ماکرولیترا از محصول **PCR** را در ۹۵ درجه **HOT** کرده و سپس **ICE** کنید.
- برای تفسیر نمونه های این کیت، پنل آن را از شرکت زیست فناوری کوثر دریافت نمایید.

آدرس: خیابان ولیعصر، بالاتر از فاطمی، خیابان مجلسی، شرکت زیست فناوری کوثر، پلاک ۴۱
 تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۳۹۱۵۰

وب سایت: www.kawsarbiotech.com
 ایمیل: kawsar_biotech@yahoo.com