



ACE I/D POLİMORFİZMİ TİP II PCR SİSTEMİ

Kat. No: DZACE

GİRİŞ

Renin-Angiotensin sistemi (RAS) kan basıncı ve böbrek fonksiyonları açısından önemli bir sistemdir. Yapılan çalışmalar, bu sistemdeki olası genetik değişikliklerin damar hastalıklarında önemli olduğunu tespit etmiştir. Angiotensin Converting Enzyme-I (ACE), RAS sisteminin en önemli elemanlarından birisidir. Bu enzimi kodlayan gendeki İnsersiyon/Delesyon mutasyonları, plazma ve doku içerisindeki ACE miktarını doğrudan etkilemektedir.

TEST SİSTEMİNİN PRENSİBİ

Test prensibi klasik PCR ve Agaroz Jel Elektroforezidir.

PCR, nükleik asitlerin in-vitro olarak (canlı organizma dışında), uygun koşullar altında çoğaltılmasına dayanmaktadır. Çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı olan, 18-25 baz uzunluğunda bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanarak, bu iki primer ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesi sağlanır. DNA'nın elektroforetik analizinin temeli, bu molekülün elektriksel bir alanda, jel üzerinde hareketine dayanmaktadır.

ÜRÜN ÖZELLİKLERİ

Sistem, PCR için gerekli tüm bileşenleri içerisinde bulundurur. İlgili bölgeye ait spesifik primerler ile analiz yapılmaktadır.

SİSTEM İÇERİĞİ

| No | Bileşen | 10 Test |
|----|-------------------------|---------|
| 1 | ACE I/D PCR Master miks | 950 µl |
| 2 | Hot Start Taq DNA Pol. | 25 µl |

SAKLAMA KOŞULLARI

- Tüm bileşenler – 20 °C de ve karanlıkta saklanmalıdır.
- Tüm bileşenler, ürün kutusunun üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.
- Sürekli eritip çözdürmek, sistemin hassasiyetinde azalmalara neden olabilir.

DNA İZOLASYONU

Sistem genomik DNA ile çalışmaktadır. Kaynak olarak tam kan kullanılmalı, kanlar EDTA'lı tüplere alınmalı, alındıktan hemen sonra bir kaç kez tüpü çevirmek suretiyle kanın pıhtılaşmadan tüp içeriğindeki EDTA ile karışması sağlanmalıdır. Kan tüpleri, bir iki hafta içinde DNA eldesi yapılacaksa + 4 °C 'de, daha uzun süre bekletilecekse – 20 °C de saklanmalıdır.

DNA izolasyonu, herhangi bir spin kolon ya da solüsyon bazlı kit, ya da manuel yöntemlerle yapılabilir. DNA elde edildikten sonra – 20 °C de saklanmalıdır. Sistem, MN NucleoSpin®Blood kitine göre optimize edilmiştir.

TEST PROSEDÜRÜ

- Bir örnek için, her 0.2 ml PCR tüpüne, **45 µl master miks** ve **0,5µl Hot Start Taq DNA Polimeraz** kullanılır. Daha sonra **4,5 µl (~10-100 ng) örnek DNA** 'sı her tüpe ayrı ayrı konulur.
- Hafifçe pipetlenerek karıştırılır.
- Aşağıda belirtilen programla çalıştırılır.
- Birden fazla örnek için, Master miks ve Hot Start Taq çalışılacak örnek sayısı ile çarpılmalı, gerekli miktarda master miks ilgili tüplere aktarılmalı ve gerekli miktarda Hot Start Taq DNA Polimeraz eklenmelidir. Taq DNA Polimeraz' ın her tüpe eşit dağılması amacı ile tüplere dağıtmaya başlamadan önce pipetlenerek iyice karıştırılması gerekmektedir. Master mikslar bölüdüktan sonra tüplere ayrı ayrı DNA lar konulur.

PCR PROGRAMI

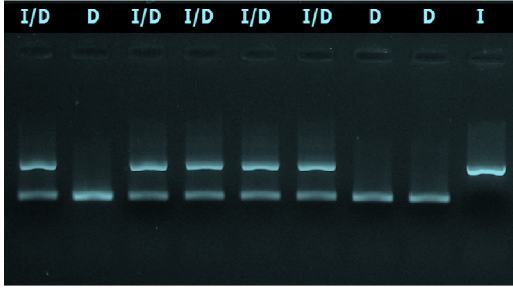
| | | |
|-------|--------|----------|
| 95 °C | 10 dk. | |
| 94 °C | 30 sn. | 35 döngü |
| 52 °C | 30 sn. | |
| 72 °C | 30 sn. | |
| 72 °C | 5 dk. | |

ANALİZ

PCR işlemi bittikten sonra, PCR ürünleri % 1.5 lik Agaroz jelde, tank büyüklüğüne uygun voltaj ve sürede yürütülür. Bu süre 10 cm x 10 cm bir jel için ortalama 160 V ve 40 dakikadır. Bu değerler farklı tank ebatlarına göre değişebilir. Jel yürütüldükten sonra UV tablası üzerine alınıp, ilgili bantlar açısından analiz edilir. Her bölgeye ait AZF bölgesi ve bant uzunlukları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Uzunluklar ;

Inseriyon 490 bp
Delesyon 190 bp
Inseriyon/Delesyon 490 / 190 bp.



OLASI PROBLEMLER

Eğer bantlar silikse,

- Örnek DNA'sı saf değildir veya az miktarda inhibitör içeriyor olabilir.
- Yeterli miktarda DNA elde edilememiş olabilir.
- Hot Start Taq DNA yetersizdir ya da iyi karışmamış olabilir.

Daha fazla soru ve problem için, lütfen Ar - Ge bölümü ile temasa geçiniz. research@drzeydanli.com.tr

İLGİLİ ÜRÜNLER

| Kat No. | Ürün |
|----------------|--|
| DZTAE50 | TAE (Tris-Asetik Asit-EDTA) Solüsyonu 50X |
| DZTBE10 | TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Solüsyonu 10X |
| DZEB | Etidyum Bromid Stok Solüsyonu |
| DZBF | Jel yükleme Solüsyonu (Bromo Fenol Blue bazlı) |

UYARILAR

- Saklama koşullarına uygun olarak saklanmalıdır.
- Oda sıcaklığında unutulmuş PCR master mikseri kullanılmamalıdır.
- PCR master miksi oda sıcaklığında tamamen eritilip, baş aşağı edilerek hafifçe karıştırıldıktan sonra tüplere bölünmelidir.
- Master mikser tüplere bölündükten sonra Hot Start Taq DNA Polimeraz ve DNA eklenerek hemen PCR işlemine geçilmelidir.
- Belirtilenden fazla Hot Start Taq DNA Polimeraz konulmamalıdır.
- Yukarıda belirtilen PCR programını uygulanmalıdır.
- PCR master mikserleri vücut içinde kullanıma uygun değildir. Sadece belirtilen türlerin tespitinde vücut dışı test sistemi olarak kullanılır.
- PCR master mikserin raf ömrü 6 aydır. Kullanmadan önce üretim tarihine dikkat edilmelidir.

DR.ZEYDANLI tarafından üretilmiştir.

Oğuzlar Mh. 1392. sok. 21/2 Balgat-Ankara/Türkiye

Tel: +90 3122858540 Fax: +90 3122858541

www.drzeydanli.com.tr - info@drzeydanli.com.tr