



TÜR TAYİN PANEL TIP I PCR SİSTEMİ

Kat. No: DZRT-P

GİRİŞ

Tür Tayin Panel Tip I PCR Sistemi, işlenmiş et ürünleri içerisinde at, domuz, eşek, hindi, keçi, koyun, sığır, soya ve tavuk materyallerinin bulunup bulunmadığını tespit eder.

TEST SİSTEMİNİN PRENSİBİ

Test prensibi, Taq DNA polimerazın 5'-3' exonuclease aktivitesine dayanmaktadır. Proben 5' ucunda bir reporter boya ve 3' ucunda da bir quencer boya bulunmaktadır. Quencer boya reporter boyanın ışmasını baskılamakta aynı zamanda da probun primer gibi davranarak uzamasına engel olmaktadır. PCR esnasında enzim aktivitesi ile birlikte reporter ve quencer arasında bulunan prob parçalanarak ayrılır, baskılanmanın ortadan kalkmasıyla ışma meydana gelir. Bu işlem sadece hedef bölge üzerinde hibridize olmuş problarda gerçekleşir. Amplifikasyon miktarı arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışma doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş-zamanlı olarak tespit edilmektedir.

ÜRÜN ÖZELLİKLERİ

Sistem, PCR için gerekli tüm bileşenleri içerisinde bulundurur. İlgili türlere spesifik primer ve problar yardımı ile örneğinizin içeriği tespit edilir. Sistem ayrıca internal kontrol içeriği ile PCR reaksiyonunuzun çalışmasını da kontrol etmektedir.

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

Hayvan mitokondrial DNA'sının izolasyonu, spin kolon yöntemine dayalı herhangi bir Kandan Genomik DNA İzolasyon kiti ile yapılabilmektedir. Bu tip kitlerde solüsyon isimleri farklı olsa da genelde prensipleri aynıdır. Özetle;

- 50-100 mg örnekten (Et veya işlenmiş gıda) temiz bir tüpe alınıp üzerine **300 µl Lizis buffer** ve **25 µl enzim** konularak enzimin aktivasyonu sıcaklığında **30 dk** inkübe edilir.
- İnkübasyondan sonra tüpler **13.000 rpm'de 2 dk** santrifüj edilip, berrak kısım temiz bir tüpe aktarılır.

- Bu tüp içerisine kitin protokolünde belirtildiği miktarda alkol eklenip oluşan karışım spin kolona aktarılır ve belirtilen hızda ve sürede santrifüj edilir.
- Sonraki aşamalar da kitin protokolünde belirtildiği şekilde yapılarak yıkama ve elüsyon işlemi tamamlanır.

Tür Tayin Panel Tip I PCR Sistemi, MN NucleoSpin®Blood kitine göre optimize edilmiştir.

SİSTEM İÇERİĞİ

No	Bileşen	10 test	20 test
1	At Master Miks	220 µl	440 µl
2	Domuz Master Miks	220 µl	440 µl
3	Eşek Master Miks	220 µl	440 µl
4	Hindi Master Miks	220 µl	440 µl
5	Keçi Master Miks	220 µl	440 µl
6	Koyun Master Miks	220 µl	440 µl
7	Sığır Master Miks	220 µl	440 µl
8	Soya Master Miks	220 µl	440 µl
9	Tavuk Master Miks	220 µl	440 µl
10	Tüm Türler için pozitif Kont.	25 µl	50 µl
11	Tüm Türler için Negatif Kont.	25 µl	50 µl
12	Hot Start Taq DNA Poly.	35 µl	70 µl

Not: Tüm Negatif DNA'lar, aynı zamanda çapraz reaksiyon kontrolüdür (At için eşek, eşek için at, tavuk için hindi, hindi için tavuk, keçi için koyun, koyun için keçi, sığır için domuz ve domuz için de sığır DNA'sı).

TEST PROSEDÜRÜ

- Bir örnek çalışmasında, her tür için, ayrı ayrı optik kapaklı strip veya tüpe, **20 µl master miks** ve **0.3 µl Hot Start Taq DNA Polimeraz**, konulur. Daha sonra **5 µl (~10-100 ng) örnek DNA** 'sı ilave edilir.
- Hafifçe pipetlenerek karıştırılır.
- Aşağıda belirtilen programla çalıştırılır.
- Birden fazla örnek için, Master miks ve Hot Start Taq DNA Polimeraz miktarları, çalışılacak örnek sayısı ile çarpılmalı, oluşan karışımdan 20 µl tüplere bölünmeli ve ayrı ayrı örnek DNA'ları konulmalıdır.

PCR PROGRAMI

95 °C	10 dk.	32 döngü
95 °C	15 sn.	
60 °C	1 dk.	

60 °C'de floresan boya olarak FAM ve HEX/JOE seçilmelidir.

Eğer;

- ABI Prism[®] sistemi kullanıyorsanız, lütfen pasif referans olarak "none" seçeneğini seçiniz.
- Mx3000p/Mx3005p kullanıyorsanız, lütfen referans boya olarak "rox" u seçiniz.

Bu sistemin çalışabileceği cihazlar;

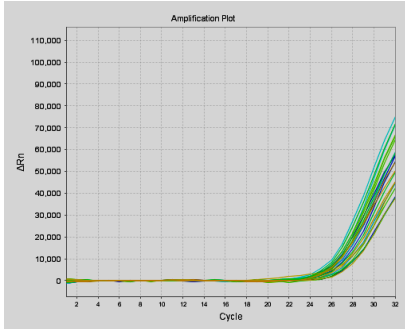
ABI Prism[®] 7000/7300/7500/7900

Mx3000P/Mx3005P

Smart Cycler II, iCycler iQ[™]4 / iQ[™]5

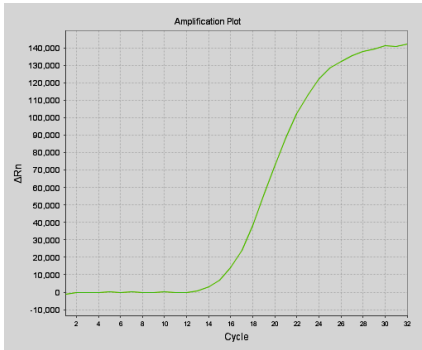
ANALİZ

PCR işlemi bittikten sonra, sonuçlarınızı FAM ve HEX/JOE da analiz edebilirsiniz. İnternal Kontrol pikleri HEX/JOE boyası ile analiz edilmeli ve tüm kuyularda gözlenmelidir. CT değeri ise $22 \leq X \leq 28$ aralığında olmalıdır.

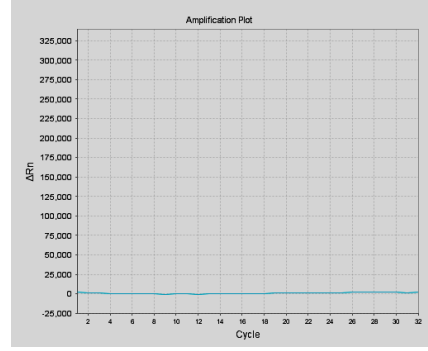


HEX boyasında internal kontrol pikleri

Türlere ait DNA'nın araştırılması için de FAM boyasında analiz yapmanız gerekmektedir. Bu boyada görmemiz gereken CT değer aralığı ise $12 \leq X \leq 25$ dir.



**FAM boyasında Master Miks
İlgili tür için pozitif (+)**



**FAM boyasında Master Miks
İlgili tür için Negatif (-)**

OLASI PROBLEMLER

Eğer internal kontrol çalışmıyorsa,

- DNA eksikliği,
- Hot start Taq DNA Polimeraz eksikliği veya yetersizliği,
- Test'te inhibitör varlığı

Söz konusudur.

Eğer pikler geç başlıyorsa,

Öncelikle örneklerinizin piklerini pozitif kontrol DNA pikleri ile karşılaştırın. Eğer pozitif kontrol DNA da bir sorun yoksa,

- Örneğinizin DNA'sı saf değildir veya az miktarda inhibitör içeriyor olabilir.
- Yeterli miktarda DNA elde edememiş olabilirsiniz.

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

UYARILAR

- Saklama koşullarına uygun olarak saklayınız.
- Oda sıcaklığında unutulmuş PCR master mikserleri kullanmayınız.
- 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 uygulayınız.
- PCR master mikserleri vücut içinde kullanıma uygun değildir. Sadece belirtilen türlerin tespitinde vücut dışı test sistemi olarak kullanılır.
- PCR master mikserlerin 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