



TÜR TAYİN PANEL TIP II PCR SİSTEMİ

Kat. No: DZTT-P

GİRİŞ

Tür Tayin Panel Tip II 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 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 türlere spesifik primerler yardımı ile örneğinizin içeriği tespit edilir.

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.

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

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 aktivasyon 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 II PCR Sistemi, MN NucleoSpin®Blood kitine göre optimize edilmiştir.

TEST PROSEDÜRÜ

- Bir örnek çalışmasında her tür için, ayrı ayrı 0,2 ml PCR tüpüne, **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.	

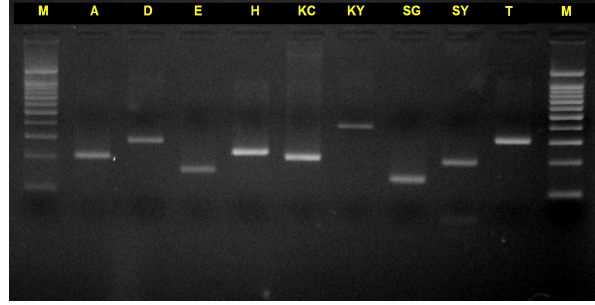
ANALİZ

PCR işlemi bittikten sonra, PCR ürünleri % 2 lik Agaroz jelde, tank büyüklüğüne uygun voltaj ve sürede yürütülür. Bu süre 10 cm x 10 cm bir jel için ortalama 160 V ve 20 dakikadır. Bu değerler farklı tank ebatlarına göre değişebilir.

Jele örnekleri yükleme sırasında, analizde örneklerin verdiği bant boylarını ayırt edebilmek için jele 100 bp marker da yüklemelidir. Jel yürüdüktan sonra UV tablası üzerine alınıp, ilgili bant açısından analiz edilir. Uygun bant uzunlukları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

No	Bileşen	Kat No	Bant (bp)
1	At Master Miks	DZTT-A	205
2	Domuz Master Miks	DZTT-D	290
3	Eşek Master Miks	DZTT-E	155
4	Hindi Master Miks	DZTT-H	220
5	Keçi Master Miks	DZTT-KC	195
6	Koyun Master Miks	DZTT-KY	385
7	Siğir Master Miks	DZTT-SG	140
8	Soya Master Miks	DZTT-SY	198
9	Tavuk Master Miks	DZTT-T	305

ÖNEMLİ NOT: Eşek miksi, At DNA'sı ile de pozitif verebilmektedir. Örneğinin içeriğinden emin olmak için hem At hem de eşek miksi ile çalışmanızı öneririz.



M: Marker, **A:** At, **D:** Domuz, **E:** Eşek, **H:** Hindi, **KC:** Keçi, **KY:** Koyun **SG:** Siğir, **SY:** Soya, **T:** Tavuk

OLASI PROBLEMLER

Öncelikle örneklerinizin bantlarını pozitif kontrol DNA bantları ile karşılaştırın

Eğer sadece örneklerinizin bantları zayıfsa,

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

Eğer, pozitif kontrol de dahil tüm bantlar zayıfsa,

- Hot Start Taq DNA Polimeraz yetersiz ya da iyi çalışmamış olabilir.

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 miksleri kullanmayınız.
- PCR master miksi oda sıcaklığında tamamen eritilip, baş aşağı edilerek hafifçe karıştırıldıktan sonra tüplere bölünmelidir.
- Master mikslere 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 miksleri vücut içinde kullanıma uygun değildir. Sadece belirtilen türlerin tespitinde vücut dışı test sistemi olarak kullanılır.
- PCR master mikslerin 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