



Y MİKRODELESYON 15 BÖLGE TİP II PCR SİSTEMİ

Kat. No: DZYD-15

GİRİŞ

Y Kromozomu üzerindeki mikrodelesyonlar Klinefelter sendromundan sonra en sık görülen spermatogenesis eksikliği sebebidir. Y kromozomundaki Ydq11.23 bölgelerinin (AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd) V ve VI tekrarlanan bölgeleri spermatogenesis sorumlu genlerini içermektedir. Bu bölgelerdeki mikrodelesyonlar azospermia' ya neden olmaktadır.

TEST SİSTEMİNİN PRENSİBİ

Test prensibi klasik PCR ve Agaroz Jel Elektroferezidir. 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. Y kromozomunun ilgili bölgelerine ait spesifik primerler ile analiz yapılmaktadır.

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.

SİSTEM İÇERİĞİ

No	Bileşen	10 test	20 test
1	CDY PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
2	BPY2 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
3	SY81 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
4	SY82 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
5	SY84 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
6	SY127 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
7	SY142 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
8	SY145 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
9	SY152 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
10	SY153 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
11	SY164 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
12	SY255 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
13	SY254 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
14	RBM1 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21
15	SY277 PCR Master miks	45 µl x 11	45 µl x 21

NOT: Her miks, hazır olarak bölünmüştür ve reaksiyon için gerekli olan Hot Start Taq DNA Polimerazı ihtiva etmektedir.

SAKLAMA KOŞULLARI

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

TEST PROSEDÜRÜ

- Master miksler 0.2 ml PCR tüplerine bölünmüş, kullanıma hazır durumdadır.
- Her bir tüpe, **5 µl (~60-100 ng) örnek DNA'sı** koyulur.
- Hafifçe pipetlenerek karıştırılır.
- Aşağıda belirtilen programla çalıştırılır.

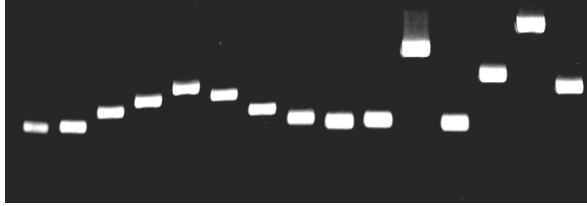
PCR PROGRAMI

95 °C	10 dk.	35 döngü
95 °C	15 sn.	
58 °C	1 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. Eğer bant yoksa "delesyon vardır" sonucu verilir. Her bölgeye ait AZF bölgesi ve bant uzunlukları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

No	Bölge	Azf Bölgesi	Bölge Uzunluğu
1	CDY	AZF c	132 bp
2	BPY2	AZF c	142 bp
3	SY81	AZF a	209 bp
4	SY82	AZF a	264 bp
5	SY84	AZF a	420 bp
6	SY127	AZF b	274 bp
7	SY142	AZF b	196 bp
8	SY145	AZF d	143 bp
9	SY152	AZF d	125 bp
10	SY153	AZF d	139 bp
11	SY164	AZF b	577 bp
12	SY255	AZF c (DAZ)	124 bp
13	SY254	AZF c	380 bp
14	RBM1	AZF c (DAZ)	853 bp
15	SY277	AZF c (DAZ)	312 bp



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

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
DZYD-8	Y Mikrodelesyon 8 Bölge Tip II PCR Sistemi
DZYD-M8	Y Mikrodelesyon 8 Bölge Multipleks Tip II PCR Sistemi (3 Miks)
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 miksleri kullanılmamalıdır.
- 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 koyulmamalıdır.
- Yukarıda belirtilen PCR programını uygulanmalıdır.
- 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