



## Y MİKRODELESYON 8 BÖLGE MULTİPLEKS

### TİP II PCR SİSTEMİ

Kat. No: DZYD-M8

#### GİRİŞ

Y Kromozomu üzerindeki mikrodelsyonlar 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 mikrodelsyonlar azospermia' ya neden olmaktadır.

#### 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. Y kromozomunun ilgili bölgelerine ait spesifik primerler yardımı ile analiz yapılmaktadır. Sistem ayrıca internal kontrol içeriği ile PCR reaksiyonunuzun çalışmasını da kontrol etmektedir.

#### SİSTEM İÇERİĞİ

No	Bileşen	10 test	20 test
1	Miks 1	495 µl	990 µl
2	Miks 2	495 µl	990 µl
3	Miks 3	495 µl	990 µl
4	Hot Start Taq DNA Pol.	35 µl	70 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, ürünün 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 izolasyonu yapılacaksa + 4 °C 'de, daha uzun süre bekletilecekse – 20 °C de saklanmalıdır.

Kandan Genomik DNA izolasyonu, herhangi bir spin kolon, solüsyon bazlı kit, ya da manuel yöntemle yapılabilir. DNA elde edildikten sonra – 20 °C de saklanmalıdır. Y Mikrodelsyon 8 Bölge Multipleks Tip II PCR Sistemi, MN NucleoSpin®Blood kitine göre optimize edilmiştir.

#### TEST PROSEDÜRÜ

- Her miks ayrı ayrı tüplerde çalışmalıdır.
- Bir örnek için, her 0,2 ml PCR tüpüne, **44 µl master miks** ve **1 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 45 µl tüplere bölünmeli ve ayrı ayrı örnek DNA'ları konulmalıdır.

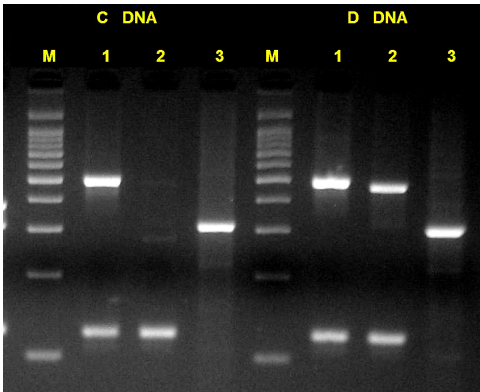
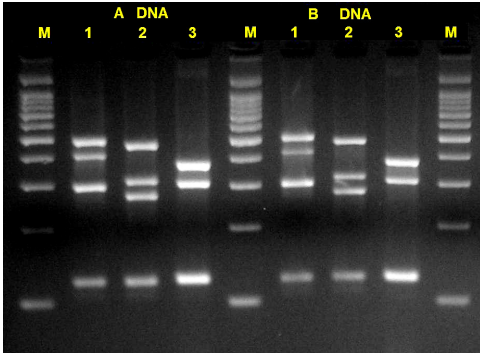
#### PCR PROGRAMI

95 °C	10 dk.	35 döngü
95 °C	15 sn.	
60 °C	1 dk.	

## ANALİZ

PCR işlemi bittikten sonra, PCR ürünleri % 2.5 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.

Miks 1	
Bölge	Uzunluk (bp)
ZFY (Kontrol)	495
SY84 (AZF a)	420
SY134 (AZF b)	298
İnternal	123
Miks 2	
Bölge	Uzunluk (bp)
SY14 (Kontrol)	470
SY86 (AZF a)	318
SY127 (AZF b)	274
İnternal	123
Miks 3	
Bölge	Uzunluk (bp)
SY254 (AZF c)	380
İnternal	312
SY255 (AZF c)	124



**A ve B DNA:** Normal Erkek DNA, **M:** marker, **1:** Miks 1, **2:** Miks 2, **3:** Miks 3, **C DNA:** Normal Kadın DNA'sı **D DNA:** Tüm bölgeleri delesyon içeren erkek DNA'sı.

## 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](mailto:research@drzeydanli.com.tr)

## İLGİLİ ÜRÜNLER

Kat No.	Ürün
DZYD-15	Y Mikrodelesyon 15 Bölge Tip II PCR Sistemi
DZYD-8	Y Mikrodelesyon 8 Bölge Tip II PCR Sistemi
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 koyulmamalıdır.
- Yukarıda belirtilen PCR programını uygulanmalıdır.
- PCR master mikseri 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](http://www.drzeydanli.com.tr) - [info@drzeydanli.com.tr](mailto:info@drzeydanli.com.tr)