

MYCOPLASMA REAL TIME PCR KİTİ

Kat. No: 17R-10-01

GİRİŞ

SNP Mycoplasma Real Time PCR Kiti, hücre kültürü gibi biyolojik materyallerde mycoplasma türlerini tespit eder.

KİT PRENSİBİ

Test prensibi, Taq DNA polimerazın 5'-3' exonuclease aktivitesine dayanmaktadır. Probenin 5' ucunda bir reporter boya ve 3' ucunda da bir quencer boya bulunmaktadır. Quencer boya reporter boyanın ışınmasını 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 ışınma meydana gelir. Bu işlem sadece hedef bölge üzerinde hibridize olmuş problemlerde gerçekleşir. Amplifikasyon miktarı arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışınma doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş-zamanlı olarak tespit edilmektedir.

ÜRÜN ÖZELLİKLERİ

Kit, PCR için gerekli tüm bileşenleri içerisinde bulunduran "Ready to use" formatındadır. Tüm mycoplasma türlerine spesifik primer ve FAM işaretli prob yardımı ile örnekteki mycoplasma türlerinin varlığı tespit edilir. Kit ayrıca HEX işaretli internal kontrol içeriği ile PCR reaksiyonunun çalışmasını da kontrol etmektedir.

TESPİT EDİLEBİLEN MYCOPLASMA TÜRLERİ

<i>M. fermentans</i>	<i>M. gallisepticum</i>	<i>M. ovipneumoniae</i>
<i>M. hyorhinis</i>	<i>M. pulmonis</i>	<i>M. pirum</i>
<i>M. arginini</i>	<i>M. arthritis</i>	<i>M. capricolu</i>
<i>M. orale</i>	<i>M. bovis</i>	Ayrıca Acholeplasma
<i>M. salivarium</i>	<i>M. pneumoniae</i>	Ayrıca Spiroplasma
<i>M. hominis</i>	<i>M. haemofelis</i>	
<i>M. genitalium</i>	<i>M. hyopneumoniae</i>	

KİT İÇERİĞİ

Bileşen	20 Test
• Mycoplasma Master Miks	400 µl
• Pozitif Kontrol	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, ürünün hassasiyetinde azalmalara neden olabilir.

TEST PROSEDÜRÜ

- Miksler tüplere bölünmeden önce hafifçe pipetaj yapılarak karıştırılır.
- Bir örnek için, her optik kapaklı strip veya tüpe, **20 µl master miks** konulur.
- Ardından miks üzerine **5 µl (~10-100 ng) örnek DNA** 'sı ilave edilir.
- Aşağıda belirtilen programla çalıştırılır.

PCR PROGRAMI

95 °C	3 dk.	Taq Aktivasyonu
95 °C	15 sn.	30 Döngü
60 °C	1 dk.	

Floresan boya olarak **FAM ve HEX/JOE** seçilmelidir.

Eğer:

- ABI Prism® sistemi kullanıyorsanız, lütfen pasif referans olarak "none" seçeneğini seçiniz.
- Mic qPCR Cyclus kullanıyorsanız, lütfen "Adjust Gain Settings" kısmında **Green Auto Gain** değerini **20'** ye, **Yellow Auto Gain** değerini **10'** a ayarlayın.

Bu sistemin çalışabileceği cihazlar:

ABI Prism® 7000/7300/7500/7900

Bio-Rad CFX96

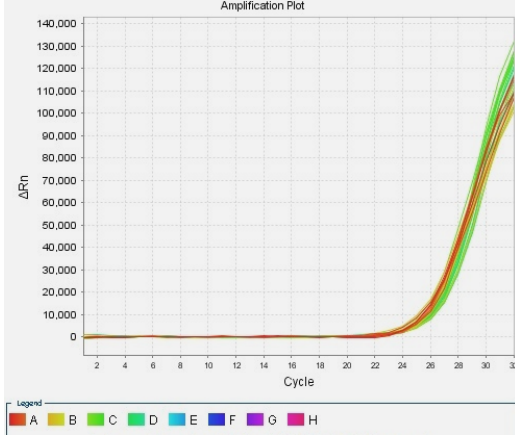
Roche LightCycler® 480 System

Rotor Gene Q

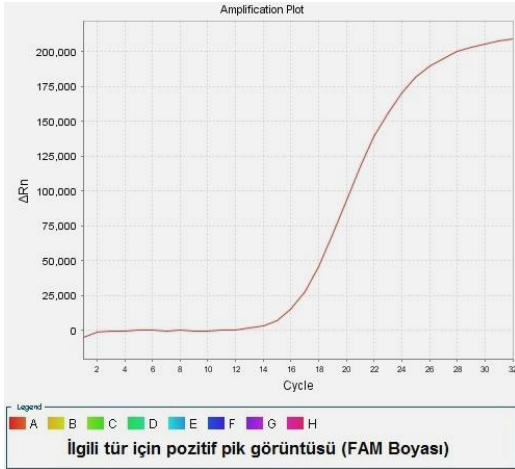
Mic qPCR Cyclus

ANALİZ

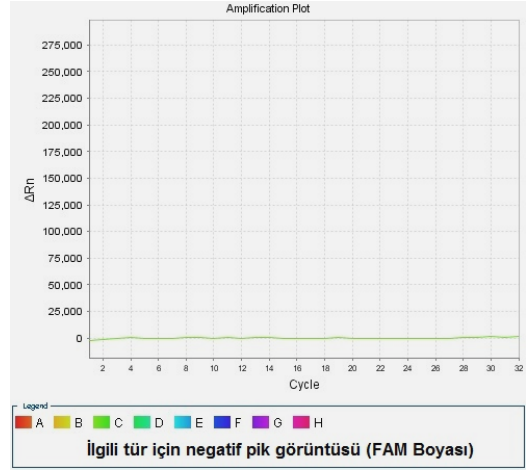
PCR işlemi bittikten sonra, sonuçlarınızı FAM ve HEX/JOE boyasında analiz edebilirsiniz. İnternal Kontrol pikleri HEX/JOE boyası ile, Mycoplasma piklerini ise FAM boyası ile analiz edilmelidir.



İnternal kontrol, tüm kuyularda pik vermeli ve CT değeri $22 \leq X \leq 28$ aralığında olmalıdır. Pik alamadığınız durumlar için "olası problemler" bölümüne bakabilirsiniz.



Mycoplasma türlerine ait pikler için de FAM boyasında analiz yapmanız gerekmektedir. Bu boyada görmeniz gereken CT değer aralığı ise $12 \leq X \leq 28$ dir. Eğer pik yoksa mycoplasma varlığı için "negatif" yorumunu yapabilirsiniz. Pik varsa, ilgili örnek Mycoplasma "pozitif" tir.



OLASI PROBLEMLER

Eğer internal kontrol çalışmıyorsa,

- DNA eksikliği,
 - 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.

Böyle durumlarda çalışma tekrar edilmeli eğer aynı problem devam ediyorsa yeniden DNA izolasyonu yapılmalıdır.

Lütfen sorularınız için bizimle temasa geçin. tech@snp.com.tr

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.
- PCR master mikslerin raf ömrü 12 aydır. Kullanmadan önce üretim tarihine dikkat edilmelidir.
- Yalnızca in-vitro tanı amaçlı kullanılabilir.

Düzenlenme Tarihi: 12.03.2012