



Instruction for Use

Thrombo FII&FV PCR Detection kit

با روش

Real-Time PCR

Cat-No: BONFII&FV-V2-24

Model: Version 02



Doc. #: IFU-Thrombo-FIIFV Doc. Version: V01 Revision Date:1403-10-04

فهرست مطالب

۲	شماره رفرانس
۳	شرح کیت
۳	اصول
۳	اطلاعات
۴	محتویات کیت
۸	عوامل تداخلی
۸	آماده سازی
۹	برنامه دمایی
۱۷	نکات آنالیز نتایج در دستگاه‌های مختلف
۱۸	حساسیت و اختصاصیت آنالیتیکال
۱۹	نشانه‌ها
۱۹	اطلاعات تماس

شماره رفرانس

- BONFII&FV-V02-24

شرح کیت

این کیت بر اساس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به صورت Real-Time ساخته شده است. این محصول برای تشخیص جهش‌های نقطه‌ای فاکتور V لیدن و فاکتور II پروترومبین در شرایط آزمایشگاهی تهیه شده و نتایج تشخیصی به دست آمده توسط این محصول باید همراه با سایر داده‌های بالینی یا آزمایشگاهی تفسیر شوند.

اصول

تشخیص آلل سالم و جهش یافته توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) بر اساس تکثیر مناطق خاص ژنوم انسان می‌باشد. در واکنش Real-Time PCR محصول تکثیر شده از طریق فلورسنت شناسایی می‌شوند. مشاهده شدت فلورسنت در حین واکنش PCR (به صورت Real-Time) تشخیص محصولات در حال تکثیر را بدون نیاز به باز کردن مجدد لوله‌های واکنش پس از اجرای PCR ممکن می‌سازد. این کیت در قالب یک پلتفرم دو لوله‌ای مولتی پلکس طراحی شده است که قادر به تشخیص هم‌زمان افتراقی دو آلل سالم و بیمار برای جهش فاکتور II پروترومبین و فاکتور V لیدن، به ترتیب با فلوروفورهای HEX (Yellow) و FAM (Green) می‌باشد.

اطلاعات

ترومبوفیلی (Thrombophilia)، عارضه‌ای است که به دلیل عدم تعادل در پروتئین‌های لخته کننده خون یا عوامل لخته کننده ایجاد می‌شود و می‌تواند ریسک ایجاد ترومبوزهای وریدی را افزایش دهد. اختلالاتی که منجر به ترومبوفیلی می‌شوند در دودسته ارثی و اکتسابی قرار می‌گیرند. ترومبوفیلی‌های ارثی شامل جهش در فاکتور V لیدن و فاکتور II پروترومبین می‌باشد.

فاکتور V Leiden نام یک جهش ژنی خاص با الگوی اتوزومی غالب ناشی از جهش نقطه‌ای G 1691 در فاکتور V است که منجر به ترومبوفیلی و افزایش تمایل به تشکیل لخته‌های خون غیرطبیعی می‌شود که می‌تواند رگ‌های خونی را مسدود کند. افراد مبتلا به ترومبوفیلی فاکتور V لیدن بیشتر از حد متوسط در معرض خطر ابتلا به نوعی لخته خون به نام ترومبوز وریدی عمقی DVT (deep vein thrombosis) هستند. ترومبوفیلی فاکتور V لیدن همچنین خطر جدا شدن لخته‌ها از محل اصلی خود و حرکت در جریان خون را افزایش می‌دهد. اگرچه ترومبوفیلی فاکتور

V لیدن خطر لخته شدن خون را افزایش می‌دهد، اما تنها حدود ۱۰ درصد از افراد دارای جهش فاکتور V لیدن لخته‌های غیرطبیعی ایجاد می‌کنند. زنان مبتلا به این جهش دو تا سه برابر بیشتر در معرض خطر سقط جنین مکرر در سه ماهه دوم یا سوم هستند.

جهش فاکتور II پروترومبین (G20210A) یک عارضه ارثی است که فرد را در نتیجه افزایش سطوح پروترومبین در گردش، به ایجاد لخته‌های خونی غیرطبیعی در ورید عمقی (deep vein thrombosis DVT) و ریه‌ها و آمبولی ریوی (PE Pulmonary embolism) مستعد می‌نماید. میزان بروز این جهش در جمعیت عمومی ۱ در ۲ میلیون نفر تخمین زده می‌شود. کمبود فاکتور II یک اختلال اتوزومال مغلوب است، به این معنی که هر دو والد باید حامل ژن باشند تا آن را به فرزندان خود منتقل کنند و مردان و زنان را به‌طور مساوی تحت تأثیر قرار می‌دهد.

محتویات کیت

Title	24 Tests
	Volume per Vial
Wild-type Master Mix	360 µl/tube × 1
Mutant-type Master Mix	360 µl/tube × 1
Thrombophili-Positive Control	50 µl/tube × 1

جدول ۲. محتویات کیت

نگهداری و انتقال کیت

- ✓ کلیه محتویات این کیت باید در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری گردد، همچنین به‌منظور انتقال و جابه‌جایی کیت از یونولیت با درب و یخ خشک استفاده نمایید.
- ✓ نگهداری کیت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هیچ‌گاه نباید بیشتر از یک ساعت شود.
- ✓ این کیت نیاز به حمل بر روی بسته‌های یخ‌زده (Frozen Ice Pack) را دارد.
- ✓ همه مواد موجود در کیت تا تاریخ انقضا، همان‌طور که روی برچسب بسته‌بندی محصول مشخص شده است، در شرایط مشخص‌شده پایدار هستند.

- ✓ از چرخه‌های متعدد ذوب و انجماد (Freeze-Thaw) خودداری کنید زیرا سبب کاهش حساسیت و در نتیجه عدم کارایی کیت می‌شود.
 - ✓ از قرار دادن مستقیم اجزای کیت در معرض نور، گرما یا رطوبت خودداری کنید.
 - ✓ معرف‌ها را قبل از استفاده در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) ذوب کنید. پس از ذوب شدن مواد موجود در کیت، لوله‌ها را به‌طور مختصر سانتریفیوژ کنید تا مطمئن شوید که مواد موجود در کیت به‌طور یکنواخت مخلوط شده‌اند.
- مواد و تجهیزات موردنیاز که باید توسط کاربر تدارک دیده شود:

۱. کیت استخراج DNA
۲. سمپلر قابل تنظیم در اندازه‌های مختلف و نوک سمپلر فیلتردار
۳. سانتریفوژ رومیزی
۴. بلوک خنک‌کننده
۵. وایتکس ۱۰ درصد
۶. گان و دستکش
۷. دستگاه Rotor-Gene, MIC یا دستگاه‌های دیگر با ۲ کانال فلورسنت رنگ Green و Yellow و یا انتخاب فلورفورهای FAM و HEX
۸. نرم‌افزار دستگاه مورد استفاده
۹. استریپ و کپ مناسب دستگاه مورد استفاده

نکات احتیاط عمومی

۱. لطفاً دستورالعمل را با دقت بخوانید و قبل از استفاده محصول با تمام اجزای کیت آشنا شوید و در حین کار دستورالعمل را دقیقاً دنبال کنید.
۲. لطفاً قبل از استفاده، ابزارهای Real-Time PCR سازگار را بررسی کنید و فرآیند را با آن‌ها جلو ببرید.
۳. از کیت یا اجزای کیت پس از تاریخ انقضا استفاده نکنید.
۴. در کیت آزمایش از ماده دیگری استفاده نکنید.
۵. از سرمپلرهای فیلتردار و RNase & DNase free استفاده نمایید.

۶. نگهداری و تخلیص نمونه‌های گرفته‌شده از مریض و محصولات حاصل از PCR باید در محلی کاملاً جدا از محل نگهداری و آماده‌سازی Master Mix ها صورت پذیرد.
۷. همه مواد موردنیاز کیت قبل از شروع کار باید به‌طور کامل در دمای اتاق ذوب شود.
۸. بعد از ذوب شدن، کلیه مواد را به‌خوبی پیپتاژ نمایید و به‌طور مختصر اسپین کنید. این امر برای جلوگیری از کاهش عملکرد کیت در طی زمان به‌طور کامل توصیه می‌شود.
۹. تمام مراحل مربوط به تهیه Master Mix ها باید بر روی یخ یا جعبه‌های سرد (Cooling Box) انجام شود. استوک اصلی مربوط به Master Mix ها بعد از برداشتن مقدار موردنیاز از آن باید به‌سرعت به فریزر منتقل شود.
۱۰. هنگام کار با مواد شیمیائی، همیشه روپوش مناسب آزمایشگاهی، دستکش یک‌بارمصرف و عینک‌های محافظ داشته باشید.
۱۱. کیت حاوی کنترل مثبت است. برای جلوگیری از آلودگی که ممکن است باعث ایجاد مثبت کاذب شود، کنترل مثبت را از سایر مواد موجود در کیت کاملاً جدا کنید.
۱۲. PCR بسیار حساس به آلودگی متقابل است، پس فرآیند کار را با دقت انجام دهید.
۱۳. هنگام کار با نمونه‌ها و مواد موجود در کیت، برای جلوگیری از آلودگی، دستکش‌ها باید مرتباً تعویض شوند.
۱۴. از تیپ‌های جداگانه و اختصاصی استفاده کنید. هنگام کار با نمونه‌ها و مواد موجود در کیت از میکروتیپ‌های فیلتر دار برای جلوگیری از ورود آلودگی DNA استفاده کنید.
۱۵. لطفاً لوله‌های PCR را با دو دستکش یک‌بارمصرف بسته‌بندی کرده و به‌درستی دور بیندازید. لوله‌های PCR را پس از اмпیلی فای باز نکنید.
۱۶. از مواد یک‌بارمصرف، بیش از یک‌بار استفاده نکنید.
۱۷. مواد موجود در کیت که بلااستفاده هستند، کیت استفاده‌شده و زباله‌ها باید به‌درستی دور انداخته شوند.
۱۸. پس از آزمایش، محل کار را پاک کنید، پیپت‌ها و تجهیزات را با اتانول ۷۵٪ و وایتکس ۱۰٪ اسپری کنید.

۱. تمامی مراحل آزمایش باید بر اساس اصول GLP^۱ توسط کارکنان آموزش‌دیده دارای پوشش حرفه‌ای و محافظ^۲ (PPE) انجام شود. آزمایش‌های بالینی بر نمونه‌های عفونی باید در هود کلاس دو (Class II Biological Safety Cabinet) در محیط BSL-2 انجام شود.
۲. پیشنهاد می‌شود هود و یا استیشن مورد استفاده قبل و بعد از کار با وایتکس ۱۰ درصد تمیز شود و همین‌طور بعد از کار لامپ UV زده شود.
۳. پیشنهاد می‌شود ۳ مکان مجزا برای استخراج DNA، آماده‌سازی مخلوط واکنش و اضافه کردن نمونه و نمونه استاندارد در نظر گرفته شود تا از ایجاد نتایج مثبت کاذب جلوگیری شود.
۴. پس از آماده‌سازی مخلوط واکنش، آن را در تاریکی نگهداری نمایید.

کنترل‌ها

۱. نمونه بیمار: از محتویات اسید نوکلئیک DNA حاصل از استخراج نمونه استفاده شود.
۲. کنترل منفی (NTC): همواره یک نمونه کنترل منفی حاوی آب بجای نمونه استفاده شود.
۳. کنترل مثبت (PTC): از کنترل مثبت کیت به جای نمونه در یک واکنش استفاده شود.

نگهداری نمونه‌های گرفته‌شده

- نمونه مورد نیاز می‌تواند از سلول‌های بافتی نظیر خون استخراج گردد.
۱. برای جمع‌آوری خون، از لوله‌های استریل حاوی مواد ضد انعقادی مانند EDTA یا سیترات استفاده کنید. توجه داشته باشید که نمونه‌های حاوی هپارین به دلیل اثر مهاري این ماده برای PCR مناسب نیستند.
 ۲. طی چند ساعت اولیه پس از خون‌گیری، به صورت مستقیم از خون استخراج صورت گیرد.
 ۳. در صورت حمل و نقل نمونه، نمونه را در شرایط سرد و همراه یخ منتقل کنید.

تاریخ انقضای کیت

تاریخ انقضای کیت بر روی جعبه محصول درج شده است.

¹ Good Laboratory Practice

² Personal Protective Equipment

عوامل تداخلی

حضور EDTA (0.5M)، HCl (1N)، دانه‌های سیلیس (1μl)، خون (1μl)، اوره (۴۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) و بافر لیز موجب مهار واکنش PCR می‌شود. وجود مهارکننده در واکنش با ژن کنترل داخلی قابل‌ردیابی است.

خالص‌سازی نوکلئیک اسید

جداسازی اسیدنوکلئیک باید توسط کیت‌های جداسازی و استخراج DNA موجود در بازار مطابق پروتکل‌های جداسازی مواد بالینی خاص انجام شود. کیت استخراج DNA در این کیت گنجانده نشده است. در صورتی که از DNA غلیظ استفاده کنید نتایج شما مطلوب نخواهند بود بنابراین پیشنهاد می‌شود برای کاهش میزان غلظت مهارکننده‌ها، DNA استخراج‌شده را ۱/۲ رقیق نمایید.

کنترل داخلی

در این کیت، هر یک از ال‌ها به‌عنوان کنترل داخلی عمل می‌کنند. کنترل داخلی به کاربر این امکان را می‌دهد که فرآیند تخلیص و احتمال وجود مواد مهارکننده PCR را بررسی نماید.

آماده‌سازی

این کیت حاوی دو میکس است. میکس Wild جهت شناسایی ال‌های سالم و میکس Mutant جهت شناسایی آل‌های جهش‌یافته‌ی مرتبط با ترومبوفیلی می‌باشند.

۱. ابتدا لوله‌ها را روی رک یخ بگذارید تا محتویات آن‌ها ذوب شوند و محتویات لوله‌ها را به آرامی پیپتاژ و یا ورتکس کنید و به‌طور مختصر سانتریفیوژ کنید.
۲. برای هر نمونه ۲ لوله در نظر بگیرید. میزان ۱۵ میکرولیتر از Wild type Master Mix را به یکی از لوله‌ها و ۱۵ میکرو لیتر از Mutant type Master Mix را به لوله دیگر PCR اضافه کنید.

۳. پس از انتقال مستر میکس‌ها به تیوب‌های واکنش، ابتدا نمونه کنترل منفی (NTC) را آماده کنید. برای این کار، ۵ میکرو لیتر از آب بدون نوکلئاز را به تیوب کنترل منفی اضافه نمایید و درب آن را ببندید. سپس لوله‌ها را به منطقه کار با اسید نوکلئیک انتقال دهید، ۵ میکرو لیتر از کنترل مثبت و ۵ میکرو لیتر از نمونه‌های بیمار را به تیوب‌های مربوطه اضافه نمایید. در حین تهیه PCR لازم است همه اجزا در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند (جدول ۲).

Reaction Setup	Volume
Master Mix	15 μ l
Sample or Control	5 μ l
Final Volume	20 μ l

جدول ۲. آماده‌سازی اجزای واکنش

۴. لوله‌ها را ببندید، مختصراً سانتریفیوژ کنید، آن‌ها را داخل دستگاه قرار دهید و اجازه دهید مطابق مشخصات برنامه قیدشده در جدول شماره ۳ تکثیر شوند. هنگام استفاده از کنترل مثبت یا مواد بالینی بسیار مراقب باشید.

- نکته: در هر بار انجام تست یک لوله به‌عنوان No Template Control باید گذاشته شود. در NTC به‌جای نمونه استخراج‌شده از آب استفاده می‌شود که برای کنترل آلودگی واکنش کاربرد دارد.
- بهتر است از فضاهای جداگانه برای اضافه کردن مستر واکنش و نمونه‌های بیمار استفاده کرد و همچنین در نظر داشته باشید که در ویال کنترل مثبت را تنها در محل آماده‌سازی نمونه و فضای آلوده بازنمایید.

برنامه دمایی

دستورالعمل برای دستگاه‌های Real-Time PCR دارای کانال FAM (Green) و Yellow (HEX) توصیف شده است. پس از تنظیم کردن دستگاه مطابق برنامه زیر (جدول شماره ۳)، واکنش را راه‌اندازی کنید. برای آگاهی از نحوه تعریف کانال در دستگاه Rotor Gene به کاتالوگ دستگاه مراجعه کنید. در صورتی که استفاده از دستگاه ABI StepOne گزینه رنگ رفرنس داخلی

(Reference Passive) را حذف کنید. مقادیر دمایی هر قسمت در جدول شماره ۳ آورده شده است.

	Temperature	Hold	Cycle
Pre-Denaturation	95 °C	4 min	1
Denaturation	95 °C	15 sec	35
Annealing and Acquisition on Channel Green (FAM) and Yellow (HEX)	60 °C	45 sec	

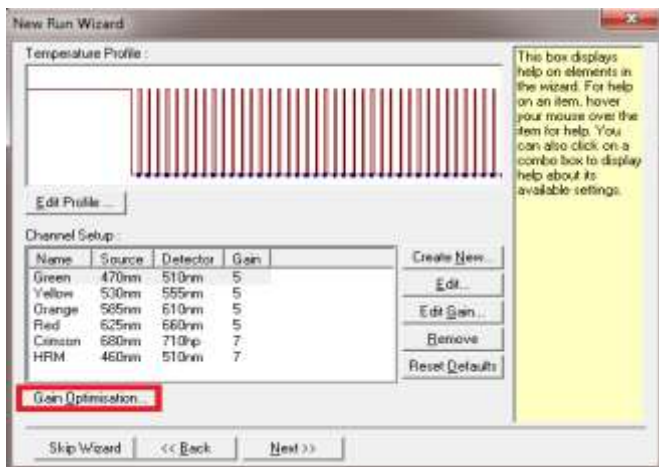
جدول ۳. برنامه دمایی

علاوه بر تعریف دمایی دستگاه که در قسمت بالا آمده است دستگاه باید برای طیف سنجش فلورسنت نیز تنظیم گردد.

تعریف طیف سنجی فلورسنت در دستگاه‌ها

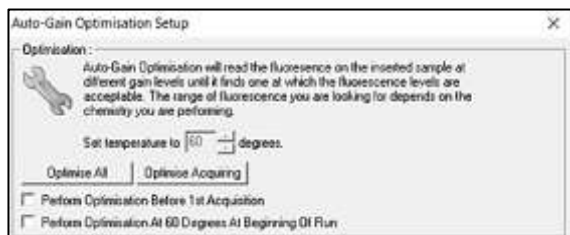
دستگاه Rotor-Gene

بدین منظور در دستگاه Rotor-gene گزینه‌ی Gain Optimization را انتخاب کنید (شکل ۱).



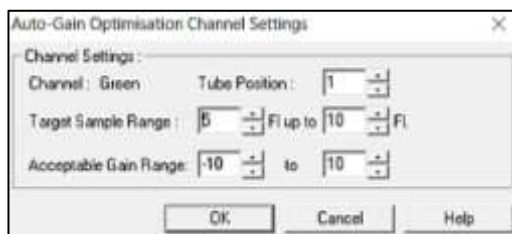
شکل ۱. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Gain Optimization

در این صفحه با انتخاب گزینه‌ی Optimize Acquiring برای هر ۲ کانال سبز و زرد بازه‌ی Target sample range از ۵ تا ۱۰ (حالت پیش‌فرض دستگاه) انتخاب شود (شکل ۲).



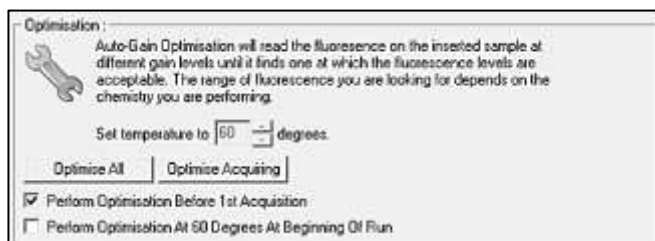
شکل ۲. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

همچنین Gain دستگاه باید بر مبنای تیوب اول که حاوی Wild-type Master Mix به همراه Positive Control کیت است، انجام شود (شکل ۳).



شکل ۳. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

پس از انتخاب بازه‌ی مناسب برای هر کانال، گزینه‌ی **Perform Optimization Before 1st Acquisition** را انتخاب کرده، و پنجره را ببندید (شکل ۴).



شکل ۴. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

آنالیز نتایج Rotor-Gene

آنالیز نتایج توسط نرم‌افزار مربوطه و بر اساس دستورالعمل دستگاه انجام شود. در کانال رنگی سبز و زرد، آستانه را روی گزینه‌ی ۰,۰۲ قرار دهید.

آنالیز نتایج بر اساس محاسبه‌ی اختلاف Ct بین دو لوله‌ی wild و mutant انجام می‌شود (جدول ۴ و ۵). لطفاً جهت دریافت برنامه‌ی آنالیز نتایج، که با وارد کردن CT نتیجه را محاسبه و اعلام می‌کند، QRCode که در انتهای دفترچه گذاشته شده است را اسکن نمایید.

۱. چنانچه نمونه در کانال **سبز** دارای منحنی سیگموئیدی و فاز لگاریتمی باشد ابتدا برای هر نمونه میزان ΔCT را مشابه فرمول زیر محاسبه نمایید:

$$\text{For Factor V mutation: } \underline{\Delta CT (\text{Green}) = CT M \text{ Mix} - CT W \text{ Mix}}$$

الف: اگر اختلاف Ct نتایج کانال سبز در لوله wild و mutant، از ۲ بزرگتر باشد ($\Delta Ct < 2$)، فرد برای جهش فاکتور V لایدن هموزیگوت سالم است. در این حالت میزان شدت فلورسنس (intensity) برای لوله موتانت بسیار کم است.

ب: اگر اختلاف Ct نتایج کانال سبز در لوله wild و mutant، از ۲- کوچکتر باشد ($\Delta Ct < -2$)، فرد برای جهش فاکتور V لایدن هموزیگوت جهش یافته یا بیمار است. در این حالت میزان شدت فلورسنس (intensity) برای لوله wild بسیار کم است.

ج: اگر اختلاف Ct بین دو لوله سالم و بیمار بین $+2 < \Delta Ct < -2$ باشد، فرد برای جهش فاکتور V لایدن هتروزیگوت است. در این حالت میزان شدت فلورسنس (intensity) برای لوله موتانت و wild تقریباً مشابه هم هستند.

چنانچه نمونه در کانال **زرد** دارای منحنی سیگموئیدی و فاز لگاریتمی باشد ابتدا برای هر نمونه میزان ΔCT را مشابه فرمول زیر محاسبه نمایید:

$$\text{For Factor II mutation: } \underline{\Delta CT (\text{Yellow}) = CT M \text{ Mix} - CT W \text{ Mix}}$$

الف: اگر اختلاف Ct نتایج کانال زرد در لوله wild و mutant، از ۲ بزرگتر باشد ($\Delta Ct < 2$)، فرد برای جهش فاکتور II پروترومبین هموزیگوت سالم است. در این حالت میزان شدت فلورسنس (intensity) برای لوله موتانت بسیار کم است.

ب: اگر اختلاف Ct نتایج کانال زرد در لوله wild و mutant، از ۲- کوچکتر باشد ($\Delta Ct < -2$)، فرد برای جهش فاکتور II پروترومبین هموزیگوت بیمار است. در این حالت میزان شدت فلورسنس (intensity) برای لوله wild بسیار کم است.

ج: اگر اختلاف Ct بین دو لوله سالم و بیمار بین $+2 < \Delta Ct < -2$ باشد، فرد برای جهش فاکتور II پروترومبین هتروزیگوت است. در این حالت میزان شدت فلورسنس (intensity) برای لوله موتانت و wild تقریباً مشابه هم هستند.

از آنجاکه هر فرد یکی از آلل‌های نرمال و یا جهش‌یافته و یا هردوی آن‌ها را دارا می‌باشد، بنابراین همیشه نتیجه آزمایش باید حداقل برای یکی از انواع نرمال یا جهش‌یافته مثبت باشد. بنابراین، این آلل‌ها درواقع به‌عنوان کنترل داخلی ایفای نقش می‌کنند. در صورتی که برای نمونه‌ای، هیچ سیگنالی در کانال زرد و یا سبز دیده نشود، آزمایش نامعتبر بوده و باید دوباره تکرار شود. اما توجه داشته باشید که در صورتی که فرد هموزیگوت سالم باشد منحنی مربوط به الل بیمار می‌تواند سیگموئیدی نباشد و شدت فلورسنس خوبی نداشته باشد و اگر فرد هموزیگوت بیمار باشد منحنی مربوط به الل سالم می‌تواند سیگموئیدی نباشد و شدت فلورسنس خوبی نداشته باشد.

جدول تفسیر نتایج

Chanel	Wild Mix	Mutant Mix	ΔC ($C_{t2}-C_{t1}$)	Result
Green (FAM) Factor v	Ct ₁	Ct ₂	$\Delta C_t > 2$	هموزیگوت سالم
			$\Delta C_t < -2$	هموزیگوت جهش یافته
			$-2 < \Delta C_t < +2$	هتروزیگوت
Yellow (HEX) Factor II	Ct ₁	Ct ₂	$\Delta C_t > 2$	هموزیگوت سالم
			$\Delta C_t < -2$	هموزیگوت جهش یافته
			$-2 < \Delta C_t < +2$	هتروزیگوت

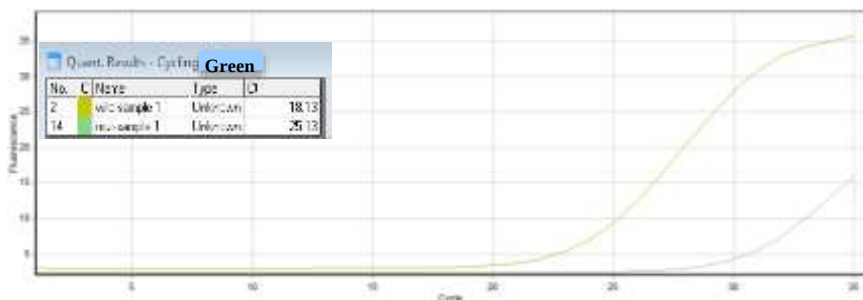
جدول ۴. تفسیر نتایج

به‌طور مثال نتایج CT های به‌دست‌آمده برای کیت با دو میکس در جدول شماره ۵ آورده شده است و ΔC_t آن محاسبه و تفسیر شده است. همچنین می‌توانید برای آنالیز از QRCode که نتایج را تحلیل و اعلام می‌کنند، استفاده نمایید.

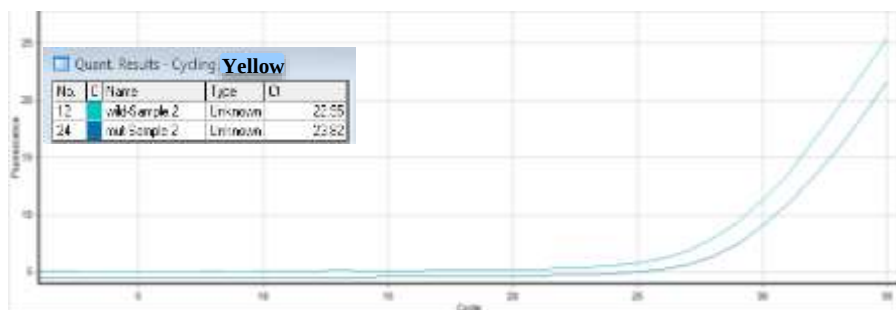
Channel	Mutant Mix	Wild Mix	ΔCT	Interpretation
Green	25.2	20.5	$25.2-20.5 = \underline{4.7}$	$\Delta CT > 2$ هموزیگوت سالم برای فاکتور v لایدن
	23.5	24.3	$23.5-24.3 = \underline{0.8}$	$-2 < \Delta Ct < +2$ هتروزیگوت سالم برای فاکتور v لایدن
	23.5	26.5	$23.5-26.5 = \underline{3}$	$\Delta CT < -2$ هموزیگوت جهش یافته برای فاکتور v لایدن
Yellow	24.2	20.5	$24.2-20.5 = \underline{3.7}$	$\Delta CT > 2$ هموزیگوت سالم برای فاکتور II پروترومبین
	24.5	25.2	$24.5-25.2 = \underline{0.7}$	$-2 < \Delta Ct < +2$ هتروزیگوت سالم برای فاکتور II پروترومبین
	21.5	24.5	$21.5-24.5 = \underline{3}$	$\Delta CT < -2$ هموزیگوت جهش یافته برای فاکتور II پروترومبین

جدول ۵. ΔCT و CT مربوط به نمونه ها در مثال فرضی

همان‌طور که در قسمت آنالیز نتایج اشاره شده، با توجه به نتایج، شاین یا شدت فلورسنس مربوط به الل موتان و سالم، می‌تواند متفاوت باشد. در شرایط هموزیگوت، یک الل شاین بالاتری نسبت به دیگری دارد و معمولاً در شرایط هتروزیگوت شاین الل‌ها شبیه به هم است. به‌عنوان مثال با توجه به تصاویر زیر در حالت هموزیگوت سالم، اختلاف بین Ct و شاین در خوانش الل‌های سالم و جهش یافته مشاهده می‌شود (شکل ۵) و در شرایط هتروزیگوت، Ct و شاین هر دو الل تا حدی به هم نزدیک است (شکل ۶).



شکل ۵. حالت هموزیگوت سالم



شکل ۶. حالت هتروزیگوت

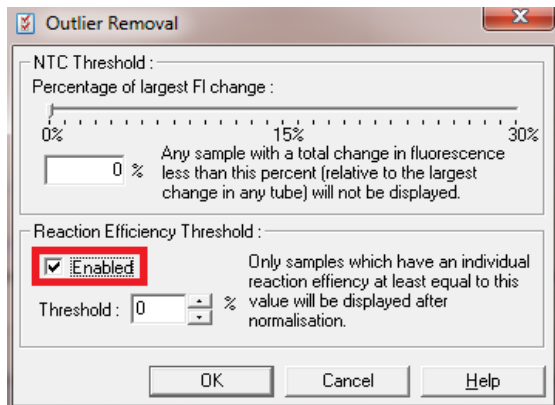
نکات آنالیز نتایج در دستگاه‌های مختلف

دستگاه Rotor-Gene

آنالیز اطلاعات در دستگاه Rotor-gene ۶۰۰۰ و Rotor-gene ۳۰۰۰ باید توسط نرم‌افزار دستگاه و بر اساس دستورالعمل دستگاه صورت گیرد.

۱. از منوی Quantitation، Analysis را انتخاب کرده و روی یک رنگ، به‌طور مثال Green، دو بار کلیک کنید.

۲. با کلیک بر گزینه ی Outlier Removal، Reaction Efficiency Threshold را فعال کنید (شکل ۷).



شکل ۷. تنظیمات دستگاه

حساسیت و اختصاصیت آنالیتیکال

کیت SENMURV Thrombophilia امکان تشخیص جهش در پرترومبین، فاکتور V لیدن و فاکتور II پرترومبین را با LOD برابر با ۱ نانوگرم در میکرولیتر و با اختصاصیت ۱۰۰٪ ممکن می‌سازد.

-لطفا جهت دریافت برنامه‌ی آنالیز نتایج QRCode مقابل اسکن شود.



پشتیبان فنی

برای پشتیبانی فنی لطفاً با تلفن‌های شرکت تماس حاصل فرمایید .

✓ ۰۹۹۳۶۶۹۳۹۴۱ (آقای قره داغی)

نشانه	مفهوم	نشانه	مفهوم
	کنترل مثبت		دور از نور و گرما
	تعداد آزمودن		برای مصارف پژوهشی
	کد کالا		شماره بیج تولیدشده
	تاریخ انقضا		محدودیت دمایی
	آدرس		مطالعه دستورالعمل

اطلاعات تماس

شرکت فناوری بن یاخته- گروه سین مورو

دفتر مرکزی : تهران، سعادت‌آباد، میدان فرهنگ، بلوار ۲۴ متری سعادت‌آباد، خیابان حیدرینیا (دوم شرقی)، پلاک ۹، شرکت فناوری بن یاخته

کد پستی: ۱۹۹۷۷۷۵۵۵۵ تلفن تماس: ۰۲۱۲۲۰۸۲۱۲۰

Web Site : www.Senmurv.co

Email : info@senmurv.ir