

Instructions for Use:

Capillary Electrophoresis Process

دفترچه راهنمای استفاده از:

فرآیند کیلاری الکتروفورز

شرکت زیست فناوری کوثر

فهرست

۱. مقدمه کپیلاری الکتروفورز	۳
۲. پیش از شروع فرآیند	۴
۲.۱. مواد و تجهیزات	۴
۲.۲. اقدامات لازم پیش از خوانش با دستگاه کپیلاری الکتروفورز	۴
۲.۳. آماده سازی نمونه ها برای دستگاه کپیلاری الکتروفورز	۴
۳. شروع فرآیند	۵
۳-۱. تنظیمات لازم جهت انجام کپیلاری الکتروفورز	۵

۱. مقدمه کپیلاری الکتروفورز

الکتروفورز مویین یک روش جداسازی بر اساس بار الکتریکی است که در لوله‌های مویین با قطر زیر یک میلی‌متر اعمال می‌شود. در این روش، مهاجرت اجزای نمونه با سرعت‌های متغیر در اثر میدان الکتریکی صورت می‌گیرد. یکی از کاربردهای الکتروفورز مویین شناسایی توالی DNA است.

جهت جداسازی قطعات DNA تکثیر شده بوسیله کیت‌های تشخیصی و تعیین هویت شرکت زیست فناوری کوثر به نکات زیر توجه فرمایید:

- ◀ در تمامی کیت‌ها قطعات تکثیر شده از ۱۰۰ تا ۵۰۰ جفت باز هستند.
- ◀ این قطعات در هنگام الکتروفورز توسط کپیلاری ۳۶ یا ۵۰ سانتی متری تفکیک می‌شوند.
- ◀ می‌توانید از پلیمر POP4 یا POP7 استفاده نمایید.

۲. پیش از شروع فرآیند

۲.۱. مواد و تجهیزات

- تیپ های یکبار مصرف
- میکرواسپین
- میکروپیپت های مناسب برای حجم های مورد نظر
- دستگاه ترموسایکلر
- دستگاه ABI Genetic Analyzer مثلاً ABI 3130/3130x و یا دستگاه های مشابه
- نرم افزار مورد نیاز برای Five-dye fragment analysis: ABI Data Collection (اطمینان حاصل کنید که نرم افزار، Five-dye fragment analysis را پشتیبانی کند).

۲.۲. اقدامات لازم پیش از خوانش با دستگاه کپیلاری الکتروفورز

- کالیبره کردن دستگاه با ماتریکس مناسب (تا قبل از تعویض لیزر، تعویض کپیلاری و یا نوع پلیمر نیازی به کالیبراسیون مجدد دستگاه با ماتریکس نیست).
- الکتروفورز کردن مقدار کمی از محصول PCR نمونه ها روی ژل آگارز جهت اطمینان از کارکرد مناسب نمونه
- آماده سازی نمونه ها برای الکتروفورز مویین

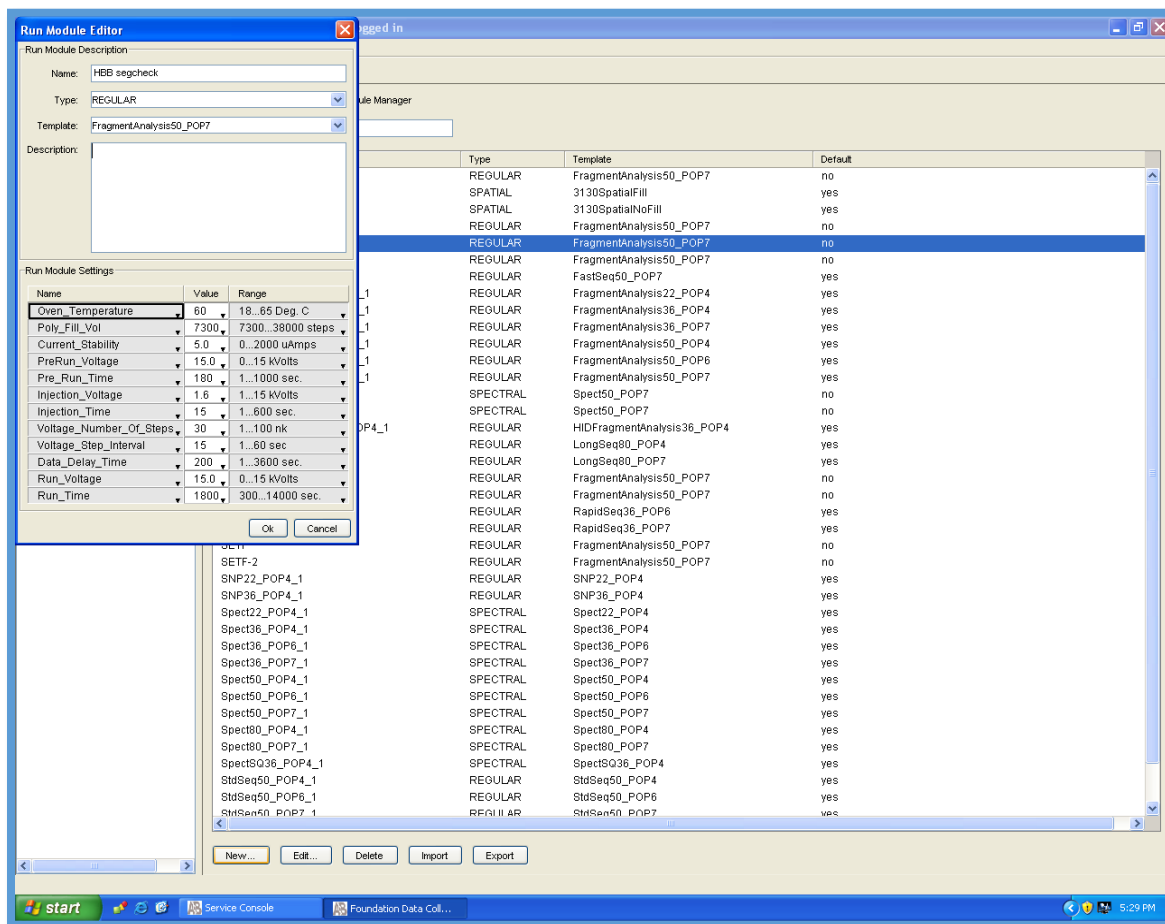
۲.۳. آماده سازی نمونه ها برای دستگاه کپیلاری الکتروفورز

۱. در تیوب ۱,۵ میلی لیتری به ازای هر نمونه ۹,۵ ماکرولیترا از فرمامید (Hi-Di™ Formamide) و ۰,۵ ماکرولیترا سائز استاندارد را ریخته، ورتکس و اسپین نمایید.
۲. ۱۰ ماکرولیترا از مواد تهیه شده در مرحله قبل را در یک تیوب ۰,۲ میلی لیتر ریخته و مقدار 0.5 تا ۲ ماکرولیترا از محصول PCR را (بسته به قدرت لیزر دستگاه خود و با توجه به عکس روی ژل مقدار بهینه را انتخاب کنید) به آن اضافه نموده و ورتکس و اسپین نمایید.
۳. تیوب ها را به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵°C قرار داده تا DNA واسرشت (Denature) شود سپس بلافاصله آن ها را به مدت سه دقیقه در دمای ۲۰°C- قرار دهید.
۴. نمونه ها در پلیت دستگاه بریزید

۳. شروع فرآیند

۳.۱. تنظیمات لازم جهت انجام کپیلاری الکتروفورز

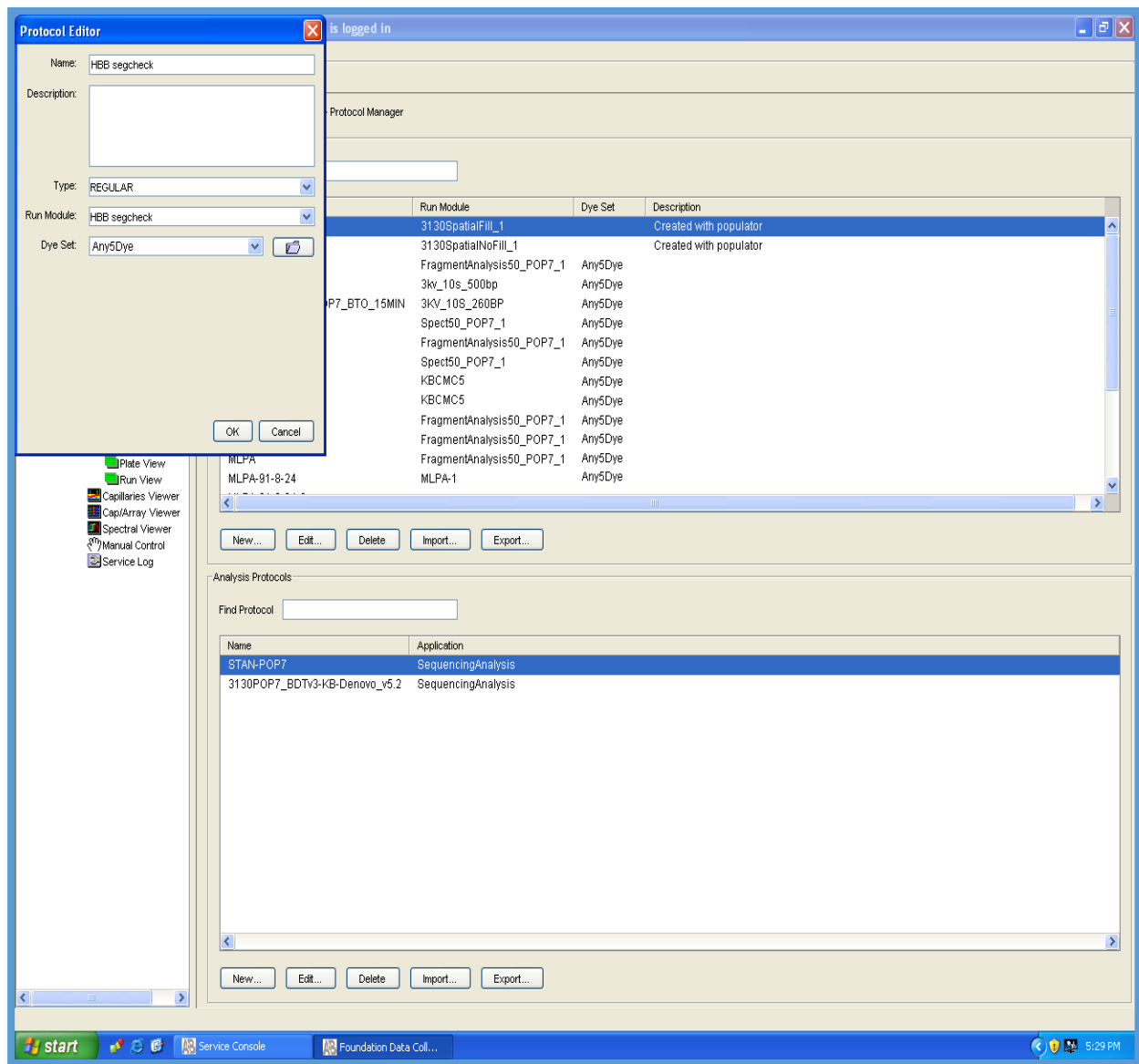
۱. جهت تنظیمات دستگاه از نرم افزار ABI Data Collection استفاده نمایید.
۲. یک پنجره جدید "Run Module Editor" را از سمت چپ نرم افزار باز نمایید (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱: Run Module Editor

۳. در قسمت "Name" نام کیت خود (به طور مثال HBB SegCheck) را وارد نمایید.
۴. در قسمت "Type" نوع آن (به طور مثال REGULAR) را انتخاب نمایید.
۵. در قسمت "Template" قالب آن (به طور مثال Fragment Analysis50_POP7) را انتخاب نمایید. (بر اساس طول کپیلاری و نوع پلیمر مورد استفاده دستگاه خودتان انتخاب نمایید).
۶. پس از وارد کردن اطلاعات مورد نظر، روی گزینه OK کلیک نمایید.

۷. در این مرحله پنجره جدید "Protocol Editor" را از سمت چپ نرم افزار باز نمایید (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۲: Protocol Editor

۸. در قسمت "Name" این پنجره نیز نام کیت خود را (به طور مثال HBB SegCheck) را وارد نمایید.

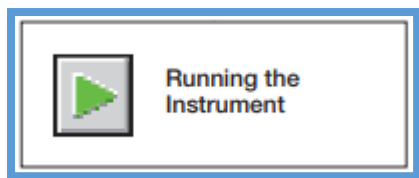
۹. در قسمت "Type" نیز نوع آن (به طور مثال REGULAR) را انتخاب نمایید.

۱۰. در قسمت "Run Module" نوع ماژولی که می خواهد اجرا شود (به طور مثال HBB SegCheck) را انتخاب نمایید.

۱۱. در قسمت "Dye Set"، به طور مثال Any 5Dye (نام انتخاب شده برای ماتریکس کالیبراسیون) را انتخاب نمایید.

۱۲. پس از وارد کردن اطلاعات مورد نظر، روی گزینه OK کلیک نمایید.

۱۳. روی گزینه Running the instrument کلیک نموده تا Run کردن نمونه ها در دستگاه ژنتیک آنالایزر آغاز شود.



توجه: زمان Injection و یا ولتاژ می توانند با مقدار محصول PCR تنظیم شوند. افزایش یا کاهش زمان و یا ولتاژ می توانند سبب شود که مقدار کمتر یا بیشتر محصول وارد کپیلاری شود. محصول PCR می توانند چندین بار در دستگاه Inject شوند و یا نتایج دوباره آنالیز شوند.

اطلاعات تماس

تهران، خیابان ولیعصر، بالاتر از فاطمی، خیابان مجلسی، پلاک ۴۱، طبقه ۳، شرکت زیست فناوری کوثر



۱۵۹۵۶۴۵۵۱۳



۰۲۱۸۸۹۳۹۱۵۰ - ۵-۸۸۹۳۰۱۴۳



۰۲۱۸۸۹۳۹۱۳۹



kbc@kawsar.ir



kawsar_biotech@yahoo.com