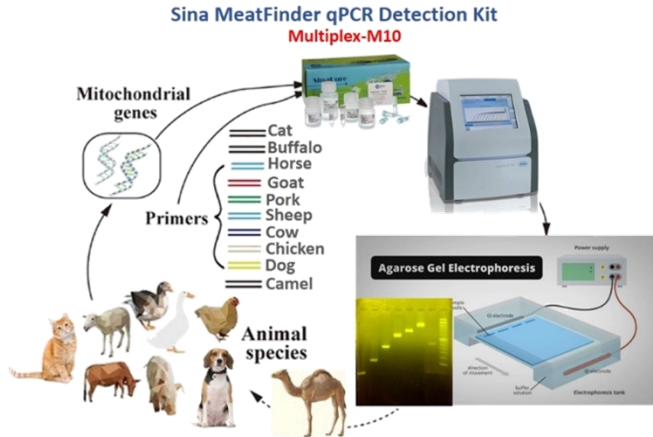


کیت Sina MeatFinder امکان شناسایی گونه‌های جانوری در نمونه‌های غذا و خوراک فرآوری شده را فراهم می‌کند. روش تشخیص، مبتنی بر تکثیر نوکلئیک‌اسید توسط PCR است که نتیجه‌ی آن یک باند با اندازه خاص برای هر یک از گونه‌ها می‌باشد. این کیت با نمونه‌های تازه و فرآوری شده آزمایش شده است. DNA الگو از نمونه‌ها استخراج می‌شود تا با PCR، تکثیر و با الکتروفورز ژل آگارز آنالیز شود.

این کیت مواد غذایی بیولوژیکی مخلوط ده گونه‌ی حیوانی را که معمولاً در غذای انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند (گوشت گاو، بز، گربه، گوسفند، سگ، خوک، اسب، شتر، مرغ و بوفالو) با استفاده از تکثیر یک ژن میتوکندریایی بسیار حفاظت‌شده شناسایی می‌کند. انتخاب این ناحیه‌ی ژنی بر اساس تعداد کپی بالا در ژنوم گونه‌های جانوری هدف و تفاوت‌های کوچک ژنتیکی بین گونه‌ها می‌باشد.



Sina MeatFinder Detection Kit

REF PQ3672

Σ 25 TESTS

Wet Ice

RUO

-20

محتویات کیت

اجزاء کیت	مقدار	نگهداری (°C)
Goat Positive control	50 µl	-20
Cow Positive control	50 µl	-20
Cat Positive control	50 µl	-20
Buffalo Positive control	50 µl	-20
Camel Positive control	50 µl	-20
Sheep Positive control	50 µl	-20
Dog Positive control	50 µl	-20
Pig Positive control	50 µl	-20
Horse Positive control	50 µl	-20
Chicken Positive control	50 µl	-20
Master Mix	325 µl	-20
Primer Mix 10	250 µl	-20

حمل و نقل و شرایط نگهداری کیت و نمونه‌ها

- ۱- این محصول باید در دمای 20°C - در صورت نگهداری شود و در صورت نگهداری در دمای مذکور تا اتمام تاریخ انقضای درج شده بر روی جعبه‌ی آن قابلیت استفاده دارد. برای جلوگیری از کاهش حساسیت تست از ذوب و انجماد مکرر محتویات کیت خودداری گردد.
- ۲- اجزای کیت در شرایط نگهداری مشخص شده پایدار هستند. نگهداری در شرایط دیگر می‌تواند باعث کاهش بازدهی محتویات کیت شود.
- ۳- جمع‌آوری نمونه باید بر اساس شرایط، نوع نمونه و مطابق با پروتکل‌های استاندارد صورت گیرد. نمونه باید ظرف مدت 24 ساعت در دمای 2°C - 8°C به آزمایشگاه منتقل شود. شرایط نگهداری و انتقال نمونه در نتایج آزمایش این کیت موثر است. شرایط نادرست نگهداری نمونه‌ها، وجود عوامل مهارکننده و واکنش آزمون، آلودگی‌های خارج از کنترل به وجود آمده در طی پردازش نمونه می‌تواند منجر به نتایج نادرست آزمایش شود.

مواد و محلول‌های مورد نیاز که همراه با کیت عرضه نشده است

- ۱- آب مقطر استریل (Cat. NO: CH8161)
- ۲- مواد مورد نیاز جهت آماده‌سازی ژل آگارز - آگارز (Cat. NO: EP5051)
- بافر TBA/TAE (Cat. NO: EP5031)
- محلول رنگ آمیزی ژل (Cat. NO: EP5083)
- بافر Loading (Cat. NO: MM2121)

تذکرات و پیشنهادات

- ۱- لطفاً قبل از استفاده، از سالم بودن کیت و اجزا اطمینان حاصل کنید. استفاده از کیت‌های معیوب ممکن است باعث فقدان نتایج و یا نتایج دوگانه شود.
- ۲- از محصول پس از تاریخ انقضا یا نزدیک به زمان انقضا استفاده نکنید.
- ۳- با توجه به اینکه میزان و کیفیت نمونه DNA در نتایج حاصل از این کیت از اهمیت بالایی برخوردار است، پیشنهاد می‌شود که برای تهیه DNA گوشت تازه یا فرآوری‌شده از کیت استخراج DNA سیناکلون (Cat. NO: EX6011) استفاده کنید. باید اطمینان حاصل شود که DNA خالص به عنوان الگوی این کیت مورد استفاده قرار می‌گیرد (غلظت $2-50\text{ng}/\mu\text{l}$ ، $2.0-1.8=260/280\text{A2}$ و عدم وجود مهارکننده‌های PCR). برای واکنش‌های PCR، از حداقل 2 نانوگرم DNA ژنومی در هر واکنش PCR استفاده کنید.
- ۴- توصیه می‌شود با انجام موازی تست با کنترل مثبت، از کیفیت DNA خالص شده و شرایط انجام تست اطمینان حاصل کنید.
- ۵- هنگام کار با کیت از دستکش لاتکس و همچنین روپوش آزمایشگاهی استفاده کنید. پس از انجام آزمایش دست‌ها را کاملاً بشویید.
- ۶- جهت جلوگیری از انتشار آلودگی در محیط، محل استخراج نوکلئیک‌اسید، تهیه PCR Mix و مکان اضافه‌نمودن نمونه نوکلئیک‌اسید به PCR Mix را از هم مجزا کنید. در هر مکان باید دستکش پوشیده شود و قبل از رفتن به مکان بعدی باید دور انداخته شود. تجهیزات، مواد و محلول‌ها باید به صورت اختصاصی استفاده شوند و از مکانی به مکان دیگر منتقل نشوند. جهت آماده‌سازی فرآیند PCR از به‌کارگیری تجهیزات مورد استفاده در فرآیند استخراج نوکلئیک‌اسید خودداری کنید.
- ۷- برای به دست آوردن نتایج صحیح باید دستورالعمل را دنبال کنید. در صورت بروز مشکل و یا سوال با بخش فنی سیناکلون تماس حاصل فرمایید. ویال‌های مواد را با دقت باز و بسته کنید. دستورالعمل‌های نگهداری کیت، در مورد دما و قرارگرفتن در معرض نور را رعایت کنید. پس از استفاده، درب ویال‌ها را ببندید و در دمای مشخص شده نگهداری کنید.

۸- اجزای کیت به طور همزمان در یک تست مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اجزای کیت را با کیت‌های دیگر جایگزین نکنید.

۹- امکان انجام تست در تمامی دستگاه‌های ترموسایکلر وجود دارد. در صورتی که از دستگاه Real Time PCR جهت انجام تست استفاده می‌کنید کانال SYBR را فعال کنید (این مرحله تنها جهت بررسی انجام فرآیند تکثیر در طول واکنش مورد استفاده قرار می‌گیرد و در نتایج حاصل از کیت تاثیری نخواهد داشت).

پروتکل

الف. استخراج نوکلئیک‌اسید

استخراج DNA از نمونه‌های گوشتی را با استفاده از کیت‌های معتبر موجود در بازار و طبق پروتکل ویژه‌ی کیت، انجام دهید.

ب. پروتکل آزمون تشخیصی PCR

ویال‌های حاوی اجزای واکنش را روی رک یخ قرار دهید تا ذوب شوند (از ذوب و انجماد مکرر اجزای کیت خودداری نمایید). جهت جمع‌آوری قطرات در هر ویال آن‌ها را با دور پایین اسپین کنید.

۱- حجم نهایی هر واکنش $25\mu\text{l}$ است. در ابتدا محاسبه کنید که جهت تست نمونه به همراه کنترل‌ها به چه مقدار از Master Mix و Primer Mix 10 نیاز دارید. توصیه می‌شود که در هر بار سنجش از یک میکروتیوب کنترل مثبت و یک میکروتیوب کنترل منفی (بدون نمونه) نیز استفاده کنید (این مقدار هنگام محاسبه حجم لازم برای انجام همه واکنش‌ها باید در نظر گرفته شود).

مخلوط واکنش را مطابق با جدول ۱ آماده کنید (توجه کنید که مقادیر داخل جدول به ازای یک واکنش می‌باشد و این مرحله از آزمون زیر هود لامینار انجام گیرد).

Reagent	Volume (per reaction)	جدول (۱)
Master Mix	13 μl	
Primer Mix10	10 μl	

(5)

۲- مقدار $23\mu\text{l}$ از مخلوط حاصل را درون هر میکروتیوب تست بریزید.

۳- سپس میکروتیوب‌ها را از هود لامینار به مکان اضافه‌کردن نمونه‌ی نوکلئیک‌اسید منتقل کنید و

- به میکروتیوب کنترل مثبت مقدار $2\mu\text{l}$ از کنترل مثبت مورد بررسی که همراه با کیت ارائه شده است را اضافه کنید.

- به میکروتیوب نمونه مقدار $2\mu\text{l}$ از DNA استخراج‌شده را اضافه کنید.

- به میکروتیوب کنترل منفی مقدار $2\mu\text{l}$ از آب مقطر استریل اضافه کنید.

۴- درب میکروتیوب‌ها را بسته و آن‌ها را در دور پایین اسپین کنید.

۵- میکروتیوب‌ها را در دستگاه ترموسایکلر قرار دهید و طبق جدول ۲ برنامه دمایی دستگاه را تنظیم کنید.

جدول (۲) برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر

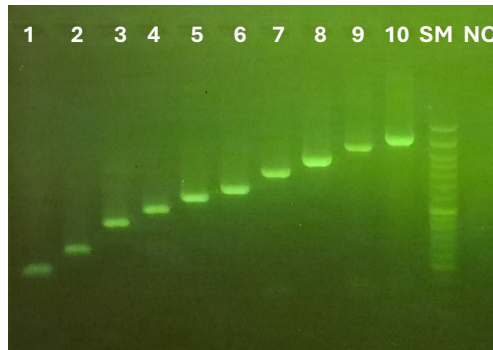
Step	Temperature (°C)	Time (sec)	Number of cycles
Pre-incubation	95	300	1
Denaturation	95	30	35
Annealing	67	30	
Extension	72	45	

(6)

ج. تفسیر نتایج

تجزیه و تحلیل محصولات تکثیر شده توسط الکتروفورز افقی در ژل‌های آگارز انجام می‌شود. جهت مشاهده‌ی باند مربوط به هر نمونه، محصول PCR را روی ژل آگارز 3% لود کنید.

ردیف	گونه‌ها	اندازه محصول
۱	بز	142 جفت باز
۲	گاو	223 جفت باز
۳	گربه	370 جفت باز
۴	بوفالو	480 جفت باز
۵	شتر	532 جفت باز
۶	گوسفند	605 جفت باز
۷	سگ	761 جفت باز
۸	خوک	901 جفت باز
۹	اسب	1075 جفت باز
۱۰	مرغ	1182 جفت باز



محصول PCR تکثیر شده روی ژل آگارز: ۱- بز، ۲- گاو، ۳- گربه، ۴- بوفالو، ۵- شتر، ۶- گوسفند، ۷- سگ، ۸- خوک، ۹- اسب، ۱۰- مرغ، SM- ماکر 50bp و NC- کنترل منفی

علائم و راهنماها

Signs	Definitions	Signs	Definitions
	Temperature range on product use		Name and address of the manufacturer of the product
	For Research Use Only		Product technical code
	Number of usable tests		Product shipping conditions



Unit 9, Rouyesh building, Science and Technology Park,
Tarbiat Modares University, Pajouhesh Blvd, Tehran, Iran

+98219108211
 hi@sinaclon.com
 www.sinaclon.com