آزمایشگاه گیاهپزشکی و بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه جیرفت **دستورالعمل کار با دستگاه** Real Time PCR	**AG-PP-E-0001** **شماره بازنگری:** **تاریخ تنظیم و بازنگری: ۱۴۰۵/۰۷/۲۷** **تعداد صفحه: ۲**	وزارت علوم، تحقیقات و فناوری دانشگاه جیرفت

هدف: این دستور العمل، استفاده از دستگاه Real Time PCR مدل Lightcycler 96 ساخت کشور آلمان واقع در آزمایشگاه بیماری شناسی دانشگاه جیرفت را شرح می‌دهد.

دامنه کاربرد: این دستگاه برای برانگیختگی مولکول های فلورسنت و آشکار سازی سیگنال فلورسانس تولید شده در طول PCR و جهت ا ندازه گیری:

الف- پی سی آر کیفی: این قابلیت جهت ردیابی وجود یا عدم وجود ژنهای هدف در نمونه‌های زیستی است؛

ب- پی سی آر کمی: قابلیت مطالعه بیان ژن در یک نمونه زیستی و ردیابی موجودات اصلاح ژنتیکی شده در محصولات کشاورزی و غذایی (GMO) می‌باشد.

مسئولیت: کارشناس آزمایشگاه در هنگام کار با دستگاه مسئولیت اجرای این دستورالعمل را به عهده دارد.

کارشناس: نسرین سیدی - کارشناس آزمایشگاه گیاهپزشکی و بیماری شناسی گیاهی- دانشکده کشاورزی

شماره تماس: ۴۳۲۱۳۰۰۰-۰۳۴ داخلی ۱۸۲- ۱۴۱ ایمیل: Seyyedeenasrin@ujiroft.ac.ir

ارائه خدمات: شنبه تا چهارشنبه ۰۷:۰۰ الی ۱۳:۰۰

مشخصات فنی دستگاه:

شرکت سازنده: Roche-Germany

مدل دستگاه: Lightcycler 96

مفاد دستورالعمل:

- طبق استاندارد مربوطه نمونه را در داخل میکروتیوب ها در حجم واکنش مشخص آماده می‌کنیم.
- روشن کردن دستگاه و اطمینان از اتصال دستگاه با نرم افزار لپ تاپ از طریق قسمت Tools، گزینه instrument manager در نرم افزار lightcycler باید سبز رنگ باشد.
- برنامه دمایی و زمانی که اعتبار سنجی شده را در نرم افزار Lightcycler بر روی لپ تاپ وارد کرده و سپس به دستگاه انتقال دهیم.
- -میکروتیوب‌های حاوی نمونه های آماده شده را در داخل دستگاه قرار داده و مشخصات نمونه‌ها را در قسمت view plate نرم افزار lightcycler موجود در لپ تاپ معرفی کرده و برای شروع کار گزینه RUN را انتخاب می‌کنیم.

- زمانی که در مدت زمان مشخص شده واکنش زنجیره ای پلیمراز انجام شد. جهت مشاهده نتایج باید آنها را از دستگاه با استفاده از قسمت ،Tools بخش instrument manager گزینه send/receive به لپ تاپ انتقال داد.

- **محاسبات:**

کمیت سنجی مطلق:

- روی گزینه Analysis کلیک نمائید.
- روی گزینه "اضافه" (بالای گزینه انالیز در سمت راست" کلیک نمائید.
- گزینه Abs Quant را انتخاب نموده و روی گزینه OK کلیک نمائید.
- نرم افزار شیب منحنی استاندارد را محاسبه نموده و کارایی، خطا، R2 و سایر موارد را محاسبه می‌نماید.

کمیت سنجی نسبی:

- پوشه آزمایش را در نرم افزار Lightcycler 96 باز نمائید.
- اطلاعات نمونه را در ویرایشگر نمونه وارد نمائید.
- روی گزینه Analysis کلیک نمائید.
- روی گزینه "اضافه" کیک نمائید (بالای گزینه analysis در سمت راست).
- گزینه Rel Quant را انتخاب نموده و گزینه OK را انتخاب نمائید.
- ژن رفرنس را در پنجره ظاهر شده با تیک زدن در مربع زیر ژن صحیح در ستون ’reference column‘‘ انتخاب نمائید.
- در قسمت ’’Sample‘‘ مسخص نمائید که کدام نمونه را می‌خواهید به عنوان کالیبره کننده استفاده نمائید، مربع مربوط به آن ژن را زیر ستون ’’Run calibrator‘‘ تیک بزنید.
- در قسمت ’’conditions‘‘ می‌توانید آن شرایطی را که می‌خواهید سایر شرایط با آن مقایسه شوند را (برای مثال زمان صفر) انتخاب نمائید.

مرجع

کاتالوگ دستگاه

دانشگاه جیرفت