نام دستگاه: Real-Time PCR System

مدل: LightCycler 96

کشور سازنده: آلمان

کمپانی: Roche

آشنایی با دستگاه:

این دستگاه سیستمی سریع و دقیق جهت انجام واکنش پی سی آر در زمانی کمتر از یک ساعت می باشد. دستگاه امکان انجام متدهای مختلف جهت بررسی بیان ژن و تغییرات ژنتیکی در حالتهای تک رنگ و چند رنگی (تا چهار رنگ) را برای کاربر فراهم می آورد. این دستگاه بر اساس پلیت و دارای قابلیت گرادیانت جهت بهینه سازی شرایط واکنش می باشد. نتایج و برنامه ها قابل مشاهده برروی صفحه لمسی و همزمان در کامپیوتر و با استفاده از نرم افزار مربوطه می باشد.

اساس روش ریل تایم پی سی آر بر اساس واکنش زنجیره ای پلی مراز می باشد. با این تفاوت که این تکنولوژی قادر است میزان تکثیر DNA الگو را در طول انجام واکنش بصورت بهنگام (Real Time) مانیتور نماید. بر خلاف پی سی آر معمولی که مشاهده نتایج واکنش تنها بعد از پایان آن امکانپذیر می باشد. این روش قادر است تکثیر DNA الگو را از طریق اندازه گیری میزان شدت رنگهای فلورسنت غیر اختصاصی مانند سایبرگرین و یا پروبهای اختصاصی نشاندار با رنگهای فلورسنت اندازه گیری نماید.

کاربرد دستگاه:

۱. پی سی آر کیفی: این قابلیت جهت ردیابی وجود و یا عدم وجود ژنهای هدف در نمونه های زیستی بکار می رود. نتایج واکنش بصورت تکثیر و یا عدم تکثیر ژنها بوده و غیر کمی می باشد.

۲. پی سی آر کمی: به طور کلی دو دسته از آنالیزهای کمی با این دستگاه قابل انجام می باشد

۲,۱. آنالیزهای کمی نسبی (Relative quantification):

این قابلیت امکان مقایسه مقدار دو تارگت متفاوت در یک نمونه زیستی واحد را فراهم آورده و نتایج نهایی را بصورت نسبت این تارگتها نمایش می دهد. این قابلیت در مطالعه بیان ژن در(MRD Minimal residual disease)، بررسی کمی دوز ژنی در ناهنجاریهای کروموزومی و ردیابی ارگانیزم های اصلاح شده ژنتیکی در محصولات کشاورزی و غذایی (GMO) کاربرد دارد.

۲,۲.آنالیزهای کمی مطلق (Absolute quantification):

این قابلیت کاربر را قادر می سازد که مقدار کمی توالی هدف را اندازی گیری کرده و نتایج را بصورت یک ارزش مطلق (مثال: لود ویروس بصورت تعداد کپی در میلی لیتر) نشان دهد. این دسته از تستها به طور روتین درمطالعات ویروس شناسی و میکروبیولوژی انجام میگیرد.

کاربردهای دیگر این دسته از آنالیزها در ردیابی DNA و یا RNA اختصاصی در مطالعاتی مانند تحقیقات انکولوژی، شناسایی گونه های خاص ویروسی و باکتریایی، ردیابی پاتوژنهایی مانند آنتراکس و لژیونلا، غربالگری مقاومتهای آنتی بیوتیکی مانند MRSA و VRE و کنترل کیفیت آب می باشد.

۳. بررسی تغییرات ژنتیکی: این دستگاه قادر به انجام آنالیزهای مربوط به موتاسیونهای نقطه ای، SNPs (single-nucleotide polymorphisms)، حذف و اضافه ها، تغییر در تعداد کپی های تکرارهای کوچک و بزرگ و بررسی تغیرات کووالانسی DNA مانند متیلاسیون است.

٤. شناسایی واریانتهای ناشناخته: این دستگاه دارای قابلیت اجرای متد HRM (high resolution melting) می باشد. مهمترین کاربردهای این متد امکان غربالگری موتاسیونها ویا تغییرات ناشناخته در ژنوم و اسکن ژن می باشد.

۵. بررسی تغییرات ژنتیکی شناخته شده: بررسی تغییرات ژنتیکی شناخته شده با دو متد مختلف توسط این دستگاه قابل انجام می باشد. روش اول End point Genotyping می باشد. این آنالیز با استفاده از دو پروب اختصاصی انجام می گیرد که هر کدام یکی از اللهای مورد نظر را ردیابی می کنند. روش دوم Melting Curve Genotyping می باشد. در این متد نیاز به پرایمرها و یا پروبهای اختصاصی الل وجود ندارد. بلکه یک پروب یکسان جهت بررسی کلیه اللهای SNPs مورد استفاده قرار

منابع:

1. Real-time PCR, M. Tevfik Dorak (Ed.).
2. Real-Time PCR: Current Technology and Applications, Julie Logan, Kirstin Edwards and Nick Saunders.
3. LightCycler Real-Time PCR Systems Application Manual.

تهیه کننده:

لیلا محمدنژاد دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی

محمد کریمی دانشجوی ارشد ایمنی شناسی

آزمایشگاه جامع تحقیقات
دانشگاه علوم پزشکی تبریز

Real-Time PCR System

آزمایشگاه جامع تحقیقات

CORE RESEARCH LABORATORY

TABRIZ UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES