



معرفی اجمالی دستگاه:

ریل تایم PCR (Real Time PCR)

برند دستگاه : Roche

کشور سازنده: Germany



توضیحات دستگاه و کاربرد آن:

دستگاه Real Time PCR دستگاهی است جهت بررسی بیان ژن‌ها موجودات زنده، دستگاه PCR ساده توانایی بررسی کمی میزان بیان یک ژن را ندارد. به همین علت دستگاهی بنام Real Time PCR را برای این کار توسعه داده‌اند. RNA مشخص می‌کند که یک سلول در سطح فنوتیپی چه ویژگی‌هایی دارد و این ویژگی‌ها را در چه سطحی بروز می‌دهد. گاهی لازم است که دو سلول از نظر ویژگی‌های فنوتیپی با یکدیگر مقایسه شوند. این مقایسه در سطح DNA قابل انجام نیست. بررسی بیان یک ژن می‌تواند در سطح RNA و یا پروتئین انجام پذیرد. از طرفی بسیاری از ژن‌ها در نهایت به RNA تبدیل شده و نقششان را تحت عنوان RNA به انجام می‌رسانند. در نتیجه در برخی موارد محصول ژنی به شکل RNA عرضه شده و هیچ‌گاه قرار نیست به پروتئین ترجمه شود. در اینصورت برای بیان آن ژن مشخص که فقط رونویسی می‌شود ولی ترجمه نمی‌شود، فقط RNA مورد بررسی می‌باشد. مولکول RNA یا ریبونوکلوئیک اسید به دلیل داشتن اکسیژن در کربن شماره ۲ و

همچنین تک رشته و کوتاه بودن آن، نسبت به مولکول های DNA واکنش پذیر تر بوده و تخریب پذیری بالایی دارد. در سیستم Real Time PCR جهت بررسی بیان یک ژن، ابتدا با کمک آنزیم رونوشت بردار معکوس (Reverse Transcriptase) مولکول های RNA به DNA های مکمل که عموماً cDNA نامیده می شوند، تبدیل می شوند. پس از پایداری مولکول مورد سنجش، وارد سیکل های Real Time PCR شده و بیان مورد بررسی قرار می گیرد. دستگاه Real Time PCR از یک سیستم اپتیکی بهره برده که توسط آن میزان DNA هر نمونه محاسبه می گردد. زمانی که cDNA سنتز شد، پس از آماده سازی نمونه جهت ورود به سیکل های پلیمریزه شدن، به نمونه DNA رنگی تحت عنوان سایبر گرین (SYBR Green) اضافه می گردد. SYBR Green موجب رنگ شدن DNA شده و همچنین خود دارای خاصیت فلورسانتی می باشد. زمانی که Real Time PCR سیکل های پلیمریزاسیون خود را شروع کرد، به ازای ساخته شدن رشته های DNA جدید، رنگ SYBR Green به رشته متصل می شود و دستگاه Real Time PCR توسط سیستم اپتیکی خود خوانش فلورسانتی را شروع می کند. لذا دستگاه Real Time PCR با خاصیت فلورسانتی SYBR Green برای هر نمونه یک گراف تکثیر ترسیم می کند. هر نقطه از گراف تکثیر نشان دهنده میزان اتصال SYBR Green به رشته DNA می باشد و در نهایت گراف که در نمایشگر متصل شده به Real Time PCR به نمایش در آمده، به آستانه خود می رسد. این میزان نشان دهنده میزان DNA بیان شده در هر نمونه می باشد.