



Biofortuna SSPGo™ HLA Tiplendirme Kitleri için Kullanım Talimatları Versiyon 4. Haziran 2011.

1. Kullanım Amacı

Biofortuna HLA SSPGo Kitleri, 'yüksek çözünürlüklü' kitlerde HLA allellerini ya da 'orta seviye' çözünürlüklü kitlerde gruba özgü allel amplifikasyonunu belirlemeye yönelik DNA tabanlı kalitatif kitlerdir. Orta seviye çözünürlüğün yaygın tanımı, sonuçların büyük bir kısmının iki basamak seviyesinde açıkça tanımlanmasıdır; örn. DQB1*02, DQB1*05 vb. Yüksek çözünürlük ise genellikle, allellerin büyük bir kısmının DQB1*02:01, DQB1*05:01 vb. gibi dört basamak seviyesinde olması şeklinde tanımlanır. Bu ürün, yalnızca eğitimli personel tarafından kullanılmak üzere tasarlanmış bir *in vitro* diagnostik üründür.

2. Giriş

HLA molekülleri, immünitede ve kendi ile kendi olmayanın tanınmasında kilit rol oynar, bunun sonucunda çoğu transplantasyon biçimi öncesinde HLA genotipleme ve HLA eşleştirme uygulanması zorunludur. HLA antijenleri, T hücre aracılı immün yanıtlarının özgünlüğünü kısıtladığı için, HLA genotipleme her tür immün bozuklukta ya da patojenlere, aşılarla ya da tıbbi tedaviye karşı immün yanıtında yararlı bir araştırma aracıdır. HLA genotipleme ayrıca belirli HLA allellerinin hastalık durumlarıyla belirgin şekilde ilişkili olduğunun gösterildiği durumlarda hastalık tanısını desteklemek için de kullanılabilir.

Çoğu HLA geni yüksek derecede polimorfik olup HLA antijenlerinin doğru bir şekilde belirlenmesi için genellikle DNA genotiplemesi gerekmektedir. Dizilime Özgü Primerlerin (SSP)¹ kullanıldığı PCR genotipleme, özellikle orta seviyede çözünürlüğün gerektiği durumlara uygun, hızlı bir HLA genotipleme yöntemidir. Biofortuna SSP kitlerinin hepsi, polimeraz da dahil, tamamen kurutulmuş reaksiyonlar gösterir, bu sayede PCR öncesinde kullanıcının yapması gereken tek şey DNA eklemektir.

Kitlerin yeni IMGT HLA uyumlulaştırma sürümleri ile güncellenmesi için her tür çaba gösterilmektedir. Kit güncellemelerine www.biofortuna.com adresinden ulaşılabilir.

3. Test Açıklaması

PCR SSP, yalnızca hedef dizilimle tamamen eşleşen 3' terminale sahip primerlerin amplifiye olacağı prensibine dayanır. Eşleşmeyen primerler pozitif amplifikasyon ürünleri vermez². Her bir PCR reaksiyon karışımında, bir housekeeping genin korunaklı bölgesini amplifiye eden bir dahili kontrol primer çifti bulunur; dahili kontrol primer çifti PCR reaksiyonunun bütünlüğünü belirtir. SSP genotiplerede genellikle, birlikte analiz edildiklerinde genotipi belirten birden fazla reaksiyon kullanılır. Amplifiye edilmiş ürünler, DNA fragmanlarını boyutlarına göre ayıran agaroz jel elektroforez sistemleri kullanılarak görüntülenir.

4. Kit İÇeriği

- 10-40x Polipropilen PCR tepsiyi ya da Őeridi, 1 ila 96 PCR kabından oluŐur (kite bağlı), her kap önceden dispens edilmiş ve dondurularak kurutulmuş 10 µl primer, polimeraz, dNTP'ler* ve tampon içerir. Her bir test ya da Şerit, bir folyo poŐetin içinde ayrı olarak paketlenir.
 - 1x Kullanım talimatları.
 - Yorum tabloları, MSDS ve Analiz sertifikası, Biofortuna web sitesinin bulunduğu www.biofortuna.com adresinden indirilebilir. Web sitesinden içerik indiremiyorsanız lütfen yerel ürün sağlayıcınız ile iletişim kurun.
- *CleanAmp™ dNTP'leri, Trilink Biotechnologies Inc tarafından Biofortuna SSPGo rnlerinde kullanılmak üzere lisanslanmıŐtır.

5. Temin Edilmeyen Reaktifler ve Donanım

- Uygun pipetleyici ve steril uçlar örn. 10 µl'lik filtre uçlarına sahip P10 pipetleyici.
- DNA izolasyon kiti/donanımı.
- UV spektrofotometresi.
- Polipropilen tüpler.
- Steril moleküler kalitede su.
- PCR sızdırmazlık katmanları veya kapakları. (Şerit kapakları Şerit tüplerine sahip kitler için sağlanmaktadır)
- Isıtılmış kapağı bulunan 96 kuyulu termal saykır. Biofortuna kitlerde kullanılan PCR plakaları ile tüpleri, MJ Research PTC-100, PTC-200, Hybaid MBS ve Techne TC-512 termal saykırılar dahil olmak üzere piyasadaki termosaykırılardan büyük bir kısmı ile kullanılmak üzere valide edilmiştir. Farklı modeller, kullanıcı tarafından başka validasyon iŐlemlerinin uygulanmasını gerektirebilir.
- Jel elektroforez reaktifleri (agaroz, 0.5x TBE, 1000 bp DNA moleküler ağrılık belirleyicisi, 10 mg/ml Etidyum Bromür).
- Jel elektroforez donanımı (jel depoları, güç kaynağı, UV transillminatrl jel dokümantasyon sistemi).

6. Güvenlik ve Uyarılar

- *In vitro* diagnostik kullanım içindir.
- Testler yalnızca uygun Şekilde eğitilmif personel tarafından yapılmalıdır.
- Tüm tiplendirme sonuçları vasıflı personel tarafından doğrulanmalı ve eğer klinik karar için kullanılıyorsa sonuçlar başka bir tiplendirme yöntemi kullanılarak onaylanmalıdır.
- Tüm reaktifleri İyi Laboratuvar Uygulaması uyarınca ele alın.
- PCR ncesi ve sonrası alanları birbirinden ayrı tutun. PCR sonrası malzemeleri PCR ncesi alana getirmeyin.
- **Biyolojik Tehlike Uyarısı:** Tüm kan ürünlerini potansiyel bulaŐıcı olarak iŐleme alın.
- **Biyolojik Tehlike Uyarısı:** Etidyum Bromür potansiyel bir karsinojendir. Bu maddeyi kullanıyorsanız, daima eldiven, laboratuvar önlüğü ve koruyucu gzlk kullanın.
- **Biyolojik Tehlike Uyarısı:** UV kaynaklar kullanırken dikkatli olun - daima eldiven, laboratuvar önlüğü ve koruyucu gzlk kullanın. Doğrudan UV ıŐık kaynağına bakmayın.
- Madde Güvenlik Veri Sayfalarına www.biofortuna.com adresinden ulaşılabilir.

7. Saklama ve Stabilit

Biofortuna SSPGo kitleri 4-30 C'de saklanmalıdır. PCR kapları, folyo torbalardan çıkarıldıktan sonra reaktifler 3 saat içinde DNA ile rehidrasyona tabi tutulmalıdır. Son kullanma tarihi için ambalaja bakın. Basılı tarih geçtikten sonra ürünleri kullanmayın.

Folyo torba yırtılmıŐ ya da delinmiŐse kitleri kullanmayın.

Bu durum PCR amplifikasyonu sırasında buharlaşmaya sebep olabileceği için, DNA ekledikten sonra PCR kaplarının sızdırmazlığının sağlam bir Şekilde sağlandığından emin olun. Kenarlara ve köşelere özellikle dikkat edin.

8. Kullanım Yönergeleri

DNA Numunesi Gereklilikleri

Testteki her reaksiyon 50 - 100 ng arası DNA kullanılacak şekilde optimize edilmiştir, ancak her bir reaksiyonun tam olarak 10 µl sıvıyla rehidrasyona tabi tutulması büyük önem taşır. Dolayısıyla test, 10 µl DNA ile 5-10 ng/µl'de yapılabilir ya da daha yüksek konsantrasyonda DNA eklenebilmesini sağlamak için öncelikle bir miktar su eklenebilir, örn. 9 ul su, ardından da 50-100 ng/µl'de 1 ul DNA eklenmesi. Heparin PCR'yi engelleyebileceği için, DNA'nın heparinize edilmiş kan numunelerinden ekstrakt edilmemesi önerilir. DNA numunesindeki OD_{260/280} UV spektrofotometrisi ölçümüne göre 1.6 ila 2 arasında olmalıdır.

PCR Öncesi Yönergeleri

- i. Sızdırmazlığı sağlanmış bir poşetten bir SSPGo tepsisi ya da şeridini çıkarın.
- ii. Tetkiklerin lot numarasını, ürün numarasını ve versiyonunu not alın.
- iii. Her bir test lokusuna ait ilk reaksiyon renginin kitin geri kalanına göre daima kırmızı olduğuna dikkat edin.
- iv. Bazı PCR tepsileri, tepsinin son kuyusunda mor renkli bir tümleşik 'şablonsuz kontrol' reaksiyonu içerir.
- v. Steril donanım kullanarak tepsi ya da şeridin her bir reaksiyonuna 10 µl DNA çözeltisi pipetleyin. Bölüm 8'de, DNA Numunesi Gerekliliklerine ilişkin nota bakın. Tepsi mor renkli bir tümleşik 'şablonsuz kontrol' içeriyorsa, bu durumda 10 µl numune dilüenti (DNA'sız) gözeneğe pipetleyin. Bölüm 8'de, Şablonsuz Kontrolle ilişkin nota bakın.
- vi. Termal döngüden önce, DNA'nın her bir reaksiyondaki kuru reaktiflere temas ettiğinden emin olun. Tüm DNA çözeltisinin kuru reaktiflere temas ettiğinden emin olmak için kısa bir Santrifüj adımı kullanılabilir.
- vii. Bir sızdırmazlık katmanıya ya da PCR tüpü kapaklarıyla reaksiyonların sızdırmazlığını sağlayın. Buharlaşmayı önlemek için sızdırmazlık mührünün mümkün olduğunca sıkı olduğundan emin olun. Kenarlara ve köşelere özellikle dikkat edin.
- viii. Tepsi ya da şeritleri doğrudan termal saykırın içine yerleştirin. Kapların blok içine tamamen girdiğinden ve kapağın tam olarak sıkıştırıldığından emin olun. Bunların yapılmaması tekil PCR arızalarına yol açabilir. Bazı PCR makinesi modellerinde, ürünün blok içinde etkili bir şekilde sıkışmasını sağlamak için sıkıştırma pedleri ya da blokları kullanılması gerekebilir.
- ix. PCR programını çalıştırın (bkz. PCR Parametreleri).

YENİDEN SÜSPANSİYON HALİNE GETİRME NOTU: Tepsinin folyo poşetten çıkarılmasını izleyen 3 saat içinde PCR karışımlarının DNA numunesi ile yeniden süspansiyon haline geldiğinden emin olun.

ŞABLONSUZ KONTROL NOTU: Bazı kitler, plaka üzerindeki nihai reaksiyon olarak bir şablonsuz kontrol (NTC) içerir. Bu reaksiyon kendini diğer reaksiyonlardan ayıracak bir mor renklendirici içerir ve bunun bir kitte bulunduğu, eşlik eden yorum tablolarında da belirtilir. NTC, PCR kontaminasyonunu ya da DNA'nızı yeniden süspansiyon haline getirmek için kullanılan suda mevcut olabilen ve Biofortuna SSPGo kitlerinden gelen genomik DNA kontaminasyonunu saptamak için tasarlanmıştır. PCR kontaminasyonu mevcutsa çeşitli boyutlarda ampikonlar gözlemlenir, kontaminasyon genomik DNA ise 187 bp'lik bir ampikon gözlemlenir.

PCR PLAKA/ŞERİT YÜKSEKLİK PROFİLİ NOTU: Aynı PCR makinesine yerleştirildiklerinde plakaların ve şeritlerin yükseklik profilinin eşdeğer olması önerilir. Yükseklik profillerinin farklı olması PCR makinesinin ısıtılan kapağıyla yeterli temas sağlanmamasına sebep olabilir. Bu da, yetersiz ya da başarısız PCR amplifikasyonuna yol açabilir.

PCR Parametreleri

Aşağıdaki PCR parametrelerinin kullanılması gerekir. Rampanın saniyede en az 1 °C hıza sahip olduğundan emin olun ve ısıtılan kapağı etkinleştirin. Kullanım talimatları için lütfen termal saykır üreticisinin kullanım kılavuzuna bakın. Termal saykır, American Society of Histocompatibility and Immunogenetic (ASHI) veya European Federation of Immunogenetics (EFI) akreditasyon kuralları uyarınca kalibre edilmelidir.

94 °C'de	5 dakika denatüre edin	
96 °C'de	15 saniye denatüre edin	← 10 döngü
66 °C'de	50 saniye sertleştirin	
72 °C'de	30 saniye genişletin	
96 °C'de	15 saniye denatüre edin	← 20 döngü
64 °C'de	50 saniye sertleştirin	
72 °C'de	30 saniye genişletin	
15 °C'de BEKLETİN		

Jel Elektroforezi

Bu talimatlar yatay agaroz jel elektroforezi için geçerlidir: 0.5x TBE tampon içinde %2'lik agaroz jeli hazırlayın. Jel soğuyarak yaklaşık 60 °C'ye düştüğünde, 0.5 µg/ml'lik nihai konsantrasyona sahip olacak şekilde etidyum bromür ekleyin. Jeli eritin ve içine mikrotitre biçimlendirme tarakları sokun (örn. 9 mm boşluklu 12x8 kuyu). Katılaştıktan sonra, tarakları çıkarın ve jeli 0.5x TBE tampon içine kapatın. Her bir tepsi ya da şerit reaksiyonundan en az 5 µl, en fazla 10 µl'lik bir miktarı, her reaksiyonun pozisyonuna dikkat ederek, jel üzerindeki ilgili kuyuya aktarın. 100 bp'lik bir merdiven, boyutun belirlenmesine yardımcı olabilir. Jeli 20 dakika boyunca 10 V/cm'de çalıştırın.

Özel donanım ayrıntıları için elektroforez sistem üreticisinin kullanım talimatlarına bakın. Jeller, UV transillüminatörlü bir UV jel dokümantasyon sistemi kullanılarak görüntülenmelidir.

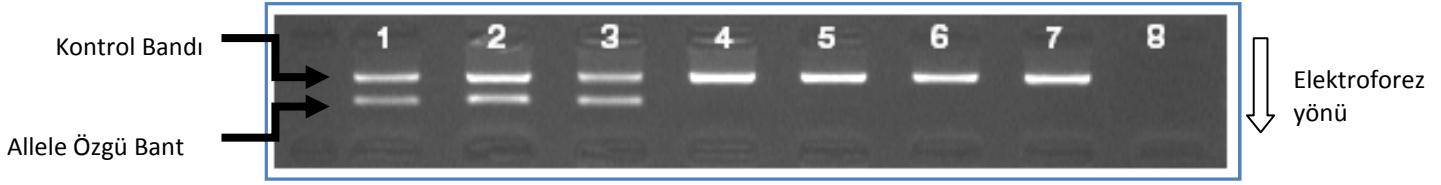
9. Yorum

SSPGo kitleri, www.biofortuna.com adresinde bulunan yorum tablolarının kullanılmasıyla sonuçların manuel olarak belirlenebileceği şekilde tasarlanmıştır. Web sitesine ulaşmakta sorun yaşarsanız lütfen yerel ürün sağlayıcınız ile iletişim kurun.

Jelin fotoğrafını, kit ve versiyon numaralarını eşleştirerek ilgili yorum formuna tutturun. Jel resmini inceleyin. Her reaksiyon bir pozitif kontrol bandı içermelidir. Bu farklı SSPGo ürünlerinde farklı boyutta olabileceği için yorum tablolarına bakın. Allele özgü bantlar mevcut olduğunda dahili kontrol bantları çok daha zayıf görünebilir. Eğer allele özgü bir bant mevcutsa fakat kontrol bandı mevcut değilse, bu yine de pozitif sonuç olarak değerlendirilmelidir. 70 bp'den düşük bantları, bunlar bağlanmamış primerler olduğu için yoksayın.

Pozitif reaksiyonları belirleyin. Pozitif reaksiyonları, yorum tablolarında belirtildiği gibi, beklenen boyutlardaki bantlar ifade eder. Verili bir reaksiyonda birden fazla ürün boyutu olabileceğini aklınızda tutun – bunlar çoklamalı reaksiyonlar olup yorum tablolarında belirtilmektedir.

Pozitif reaksiyonları yorum tablolarıyla karşılaştırın. Reaksiyonda görülen bir pozitif sonuç, yorum tablosunda bunun karşısında listelenen allellerden en az birinin mevcut olduğunu belirtir. Herhangi bir verili allel çeşitli tüplerde amplifiye olabilir – allel mevcutsa, ilgili tüm reaksiyonlarda bir pozitif reaksiyon olmalıdır.



Şekil 1 Allele özgü bantlar ve kontrol bantlarının mevcudiyeti ile belirtilen pozitif reaksiyon (reaksiyon 1-3); kontrol bantlarının mevcudiyeti allele fakat özgün bantların mevcut olmaması ile belirtilen negatif reaksiyon (reaksiyon 4-7); ve herhangi bir bantın mevcut olmamasıyla belirtilen başarısız reaksiyon (reaksiyon 8) örnekleri.

Kit versiyonunun yorum tablosundaki versiyonla doğru bir şekilde eşleştiğinden emin olun.

10. Kalite Güvence ve Kalite Kontrol

Herhangi bir ürün Biofortuna'dan ayrılmadan önce her SSPGo serisi kalite kontrolünden geçer. Doğru performanstan emin olmak için, her kit serisindeki numuneler, tanımlı bir insan DNA numunesi paneli ile karşılaştırılarak kontrol edilir. Her reaksiyon en az 48 adet iyi karakterize edilmiş hücre çizgisi DNA numunesiyle karşılaştırılarak doğrulanmıştır. Biofortuna, her laboratuvarın tüm tiplendirme ürünlerini klinik numuneler üzerinde kullanmadan önce dahili olarak doğrulamasını önerir. Diagnostik tiplendirme işlemini yalnızca tam olarak eğitilmiş ve vasıflı personel uygulamalı ve sonuçlar, başka bir eğitimli üye ya da çalışan tarafından çapraz kontrolden geçirilmelidir.

11. Referanslar

- 1) Bunce M et al Tissue Antigens. 1995 Nov;46(5):355-67.
- 2) Saiki RK et al. Nature. 1986 Nov 13-19;324(6093):163-6.

12. Kullanılan Semboller için Kılavuzu

▽	Test sayısı
EC REP	EC Temsilcisi
📖	kullanım talimatlarına bakın
🏭	Üretim Tesisi
IVD	İn Vitro Diagnostik
🕒	Son Kullanma Tarihi
4°C ↓ 30°C	Saklama Sıcaklığı
LOT	Lot Numarası

13. Üretici İletişim Bilgileri

Biofortuna Ltd
 1 Hawkshead Road
 Croft Business Park
 Bromborough, CH62 3RJ, İngiltere
 T: +44 (0) 151 334 0182
 E: info@biofortuna.com
 W: www.biofortuna.com



14. Çeviriler

FranÇaise:	Traductions disponibles
Deutsch:	Übersetzungen verfügbar
Español:	Traducciones disponibles
Italiano:	Traduzioni disponibili
České:	Pşeklady k dispozici
Danske:	Tilgængelige oversættelser
Έλληνες:	διαθέσιμες μεταφράσεις
Magyar:	Fordítások
Norske:	Oversettelser tilgjengelig
Polska:	Dostępne tłumaczenia
Português:	Traduções disponíveis
Россия:	Переводы доступны
Slovenskému:	Pşeklady k dispozici
Türkçe:	Çeviriler mevcut
Svenska:	Översättningar tillgängliga

www.biofortuna.com

15. SSPGo Sorun Giderme Kılavuzu

Sorun	Olası Neden	Çözüm Yolu
Hiçbir reaksiyonda amplifikasyon olmuyor	Yanlış DNA konsantrasyonu kullanılmaktadır	DNA miktarını ölçün ve reaksiyon başına, 10 µl'lik bir hacme toplamda 50 - 100 ng DNA'nın eklendiğinden emin olun.
	DNA numunesinde PCR inhibitörleri vardır	Heparinize edilmiş kan kullanmaktan kaçının, ya da bu mümkün değilse, heparinin DNA'ya temas etmeyeceği şekilde, yıkanmış intakt lenfositlerden DNA ekstrakt edin. DNA numunelerinden heparini çıkarmak için heparinaz kullanılan protokoller tanımlanmıştır. DNA'yı yeniden ekstrakt edin. DNA ekstraksiyon kitinin kullanımını için üretici yönergelerine bakın.
	Düşük kaliteli DNA numunesi kullanılmaktadır	DNA kalitesini ölçün. A260/A280 oranı, UV spektrofotometriyle ölçüldüğünde 1.6 – 2.0 olmalıdır. Kullanmadan önce DNA'nın çözelti içinde tamamen yeniden süspansiyon haline geldiğinden emin olun.
	Reaktifler tamamen yeniden süspansiyon haline gelmemiştir	DNA eklendikten sonra peletlerin tamamen rehidrasyona tabi tutulduğundan emin olun. Gerekirse, plakayı kısaca santrifüje tabi tutun. Reaksiyon başına 10 µl DNA çözeltisi kullanıldığından emin olun.
	Termal saykıl doğru bir şekilde ayarlanmamıştır	PCR programının kullanım talimatları uyarınca doğru bir şekilde girildiğinden emin olun. Termal saykılın ısıtılmış kapağının yerine geçmiş olduğundan ve yeteri kadar sıkıldığından emin olun. Daha fazla yardım için termal saykılın kullanım talimatlarına bakın.
	Elektroforez sorunları	Elektroforez deposuna güç gittiğinden emin olun – güç paketini kontrol edin ve elektrotları temizleyin. Jeli 0.5X TBE tampon içinde çalıştırın. 0.5 µg/ml taze etidyum bromür kullanıldığından emin olun. Jelleri görüntülerken yeterli UV illüminasyonu olup olmadığını kontrol edin. Daha fazla yardım için jel deposu ve güç paketi üreticisinin talimatlarına bakın.
	Plakaların sızdırmazlığı doğru bir şekilde sağlanmamıştır.	Plaka dokunulmazlığının yeterli bir şekilde sağlanmaması PCR sırasında buharlaşmaya sebep olabilir. Biofortuna önerilen sızdırmazlık katmanlarını temin eder (ürün numarası BF-40-11). Tüm kuyular arasında yeterli sızdırmazlık materyali

Sorun	Olası Neden	Çözüm Yolu
		olduğundan emin olun. PCR tepsi ya da şerit kenarlarına yakın kuyulara özellikle dikkat edin.
Kontrol ve/veya allele özgü amplikonların rasgele atlanması.	Jel hataları	<p>Tüm kuyuların jel üzerine doğru sırayla yüklendiğinden ve her birine aynı hacimde PCR reaksiyonu eklendiğinden emin olun.</p> <p>Pipetleyicileri üretici talimatlarında açıklanan şekilde kalibre edin.</p> <p>Jel içinde kuyuların düzgün bir şekilde oluşup oluşmadığını kontrol edin.</p> <p>Kuyuların alt kısmı yırtılabileceği için tarakları çıkarırken dikkatli olun.</p> <p>Jeli eritmeden önce agarozun tamamen çözündüğünden emin olun.</p> <p>Küçük amplikonlar uçtan kaçabileceği için jelin fazla uzun bir süre çalıştırılmadığından emin olun.</p> <p>Jelin, bantların ayrılmasına yetecek kadar uzun süre çalıştırıldığından emin olun.</p> <p>Taze etidyum bromür çözeltisi kullanın.</p>
	Termal saykıl sorunları	<p>Özellikle tetkik kenarı çevresindeki arızalar kapağın yeterli kadar sıkılmamasından kaynaklanabilir. Bu durum, PCR reaksiyonunun buharlaşmasına ve PCR kabının yarısına kadar yoğunlaşmasına sebep olabilir ve PCR arızasına yol açabilir.</p> <p>Termal saykılınızın bakımı ve kalibrasyonu için üretici talimatlarına uyduğunuzdan emin olun.</p> <p>PCR parametrelerinin kullanım talimatları uyarınca doğru olup olmadığını kontrol edin.</p>
	Buharlaşma sorunları	<p>Tüm kuyular arasında yeterli sızdırmazlık materyali olduğundan emin olun. PCR tepsi ya da şeritlerinin kenarlarına yakın kuyulara özellikle dikkat edin.</p> <p>Isıtılmış kapağın etkinleştirildiğinden ve kapak aracılığıyla yeterli sıkıştırma uygulandığından emin olun. Biofortuna önerilen sızdırmazlık katmanlarını temin eder (ürün numarası BF-40-11).</p>
	DNA sorunlarına bağlı sporadik arıza	<p>DNA yoktur: Tüm kuyularda DNA olduğundan emin olun.</p> <p>Yanlış hacim: Her reaksiyona 10 µl DNA çözeltisi eklendiğinden emin olun.</p> <p>Fazla DNA eklenmiştir: 200 ng'den yüksek konsantrasyon PCR arızasına sebep olabilir.</p>

Sorun	Olası Neden	Çözüm Yolu
		DNA'daki kontamine edici maddeler sporadik ya da yaygın amplifikasyon arızasına sebep olabilir.
Lekeli Jel Görüntüsü	DNA	DNA konsantrasyonu ve saflığını kontrol edin. PCR reaksiyonlarına fazla DNA eklenmesi lekeli jel görüntülerine sebep olabilir.
Zayıf amplifikasyon.	DNA konsantrasyonu sorunu	DNA konsantrasyonunu kontrol ederek ne fazla yüksek ne de fazla düşük olduğundan emin olun. Reaksiyon başına, 10 µl içinde 100 ng DNA hedefleyin.
	Termal saykıl sorunları	Termal saykılınızın bakımı ve kalibrasyonu için üretici talimatlarına uyduğunuzdan emin olun. PCR parametrelerinin kullanım talimatları uyarınca doğru olup olmadığını kontrol edin.
	Jel hataları	Her kuyuya, 5 µl ila 10 µl arasında olacak şekilde, aynı hacimde reaksiyon eklendiğinden emin olun. Pipetleyicileri üretici talimatlarında açıklanan şekilde kalibre edin. Taze etidyum bromür çözeltisi kullanın.
Özgün olmayan amplifikasyon	DNA konsantrasyonu sorunu	DNA konsantrasyonunu kontrol ederek ne fazla yüksek ne de fazla düşük olduğundan emin olun. Reaksiyon başına, 10 µl içinde 50 - 100 ng arası DNA hedefleyin.
	Reaksiyonlar yanlış sırada yüklenmiştir	PCR ve jel şeritlerinin hizasını kontrol edin. Fazla yükleme yapmamak ve tarakları çıkarmadan önce jelin katılaştığından emin olmak suretiyle elektroforezde bitişik kuyulardan fiziksel taşmayı önleyin.
	Yeni allel tanımlanmıştır	Yeni bir amplifikasyon yapısıyla, önceden dizilime tabi tutulmamış alleller mevcut olabilir. Eski yorum sayfaları kullanıyorsanız, bu durumda www.biofortuna.com adresinden daha güncel bir uyumlulaştırma güncellemesi indirin. Bu yeni yapıyla uyum sağlamazsa, farklı bir Biofortuna kiti kullanarak kontrol etmeniz ya da dizilimi dizilim tabanlı tiplendirme ile tanımlamanız gerekir. Alternatif olarak, daha fazla yardım ve öneri için Biofortuna teknik servisiyle iletişim kurun.
Amplifikasyon yapısı yorumlanabilir değil	Bir artefaktın özgün bir bant olarak yanlış yorumlanması	Doğru bant boyutu için versiyona özgü Yorum Tablolarını kontrol edin. Tüm özgün amplifikasyonların doğru boyutta olup olmadığını ya da bir artefaktın (taşınma, primer dimer) amplifikasyon olarak yanlış yorumlanıp yorumlanmadığını kontrol edin.
	Reaksiyonlar yanlış sırada yüklenmiştir	PCR ve jel şeritlerinin hizasını kontrol edin.
	Tekil PCR arızası	Tüm dahili pozitif kontrollerin mevcut olup olmadığını kontrol edin. Herhangi bir reaksiyonu eksik bırakmadan

Sorun	Olası Neden	Çözüm Yolu
		yeniden yorumlayın.
	Küçük amplikonlar eksiktir	Fazla elektroforez uygulanmıştır, küçük amplikonlar jelin ucundan kaçmış ya da etidyum bromürden oluşan ön kısmı geçmiştir veya önceki jel kuyusuna girerek dağılmıştır. Jel sisteminiz için uygun elektroforez koşulları kullanın.
	Numunede yeni allel tanımlanmıştır	Mevcut allellere karşılık gelmeyen bir amplifikasyon yapısına yol açacak şekilde, kimi zaman yeni alleller keşfedilebilir. Lütfen yerel ürün sağlayıcınız ile iletişim kurun.