prepIT®·L2P

كتيب بروتوكول التنقية اليدوية

DNA genotek

www.dnagenotek.com

هاتف: +1.613.723.5757
support@dnagenotek.com
sales@dnagenotek.com

3000 - 500 Palladium Drive
Ottawa, ON, Canada K2V 1C2

عينات ممتازة
أداء موثوق به

CE IVD

يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني **www.dnagenotek.com** للحصول على النسخة الكاملة من كل بروتوكول وبكل لغة إضافية.

الدعم الفني متوفر من يوم الإثنين إلى يوم الجمعة (من الساعة التاسعة صباحًا وحتى الخامسة عصرًا - حسب التوقيت الشرقي القياسي):

- معفي من الضرائب (أمريكا الشمالية): 1-866-813-6354، الخيار 6
- لبقية الدول الأخرى: +1-613-723-5757، الخيار 6
- البريد الإلكتروني: support@dnagenotek.com

Oragene®•DNA وORAcollect®•DNA غير متوفرة للبيع في الولايات المتحدة.
Oragene®•DISCOVER هي لأهداف البحث فقط، وليس لاستخدامها في عمليات التشخيص.
قد لا تكون بعض منتجات الأحماض النووية DNA Genotek متوفر في كل المناطق الجغرافية.
®Oragene, prepIT وORAcollect هي علامات تجارية مسجلة لشركة .DNA Genotek Inc.
جميع الأصناف والأسماء الأخرى المذكورة هنا هي ملكية لأصحابها المعنيين.
جميع خطط برامج DNA Genotek والمستندات الفنية وملاحظات التطبيقات موجودة في قسم الدعم على موقعنا الإلكتروني www.dnagenotek.com

الوكيل المعتمد الأوروبي
Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands

توضيح الرموز:

- IVD جهاز طبي للتشخيصي المختبري
- REF رقم الكتالوج
- CE علامة CE
- 15°C – 30°C تعليمات التخزين
- جهة التصنيع

براءة الاختراع (www.dnagenotek.com/legalnotices)

قائمة المحتويات

غرض الاستخدام 4
ملخص وشرح المجموعة 4
المزايا 4
المواد 4
تحذيرات وتنبيهات 4
تحديدات استخدام المُنتج 5
نقل prepIT•L2P 5
تخزين prepIT•L2P (مدة الصلاحية) 5
التخلص 5
الصيانة/الإصلاحات 5
خصائص الأداء 5
معلومات المريض 5
الضمانات 6
حل المشكلات 6

prepIT® البروتوكول المعملي للتنقية اليدوية للحمض النووي DNA من:

0.5 ملليلتر من العينة . . . . . .صفحة 7
العينة الكاملة . . . . . .صفحة 10
0.5 ملليلتر باستخدام الصفيحة المحتوية على 96 تجويف . . . . . .صفحة 17
تحديد كمية الحمض النووي DNA . . . . . .صفحة 22

غرض الاستخدام:
من أجل تنقية الحمض النووي الجيني DNA من مجموعة الجمع ®Oragene و®ORAcollect.

ملخص وشرح المجموعة
شاهد البروتوكول في الصفحات من 7 إلى 20.

الخصائص
- الكيمياء المُطورة من أجل إصلاح الحمض النووي DNA من العينات الفموية التي تم جمعها بواسطة خطوط المنتج Oragene وORAcollect.
- مُثبتة بشأن إعطاء نتائج ثابتة بحجم جزيئي عالي وجودة عالية للحمض النووي DNA.
- طريقة تنقية يمكن تحديد مقدارها لأحجام كبيرة أو صغيرة من العينات.
- سير عمليات مناسب وفعال مدعومًا بالمساعدة التقنية ابتداءً من الجمع ومروراً بالاستخلاص.
- طريقة فعالة من حيث التكاليف وتطلب أقل ما يمكن من الأدوات.

المواد
- prepIT•L2P (prepIT-L2P-1.5, prepIT-L2P-5 مع/أو prepIT-L2P-45)
- كنيب المنتج prepIT•L2P

تحذيرات وتنبيهات
- للاستخدام المعملي فقط.
- لا تبتلع مادة الكاشف السائلة.
- لا تستخدمه إذا كانت العبوة تالفة أو إذا كان غطاء القمع مكسورًا أو به تسريب.
- لا تستخدم prepIT•L2P بعد التاريخ المذكور عند "الاستخدام بواسطة" الموجود على زجاجة الكاشف.
- أشطف بالماء منطقة العين أو الجلد إذا لامسها مادة الكاشف.
- ورقة بيانات سلامة المواد (MSDS) متوفرة على موقعنا: www.dnagenotek.com

تحديدات استخدام المُنتج
استخدم prepIT•L2P فقط كما هو موضح في كتيب المُنتج.

نقل prepIT•L2P
يمكن نقل prepIT•L2P في درجات حرارة الغرفة كمادة متخبر كاشفة. لا تحتاج إلى وسيلة حمل خاصة.

تخزين prepIT•L2P (مدة الصلاحية)
تخزين في درجة حرارة الغرفة. مدة الصلاحية يجب أن تكون 30 شهرًا إذا كان الغطاء موضوعًا بشكل مناسب والتخزين في درجة حرارة الغرفة.

التخلص
تخلص من المجموعات غير المُستخدَمة أو التالفة أو التي بها تسريب، وذلك حسب القوانين الفيدرالية المحلية أو قوانين الدولة. تخلص من فضلات المختبر.

الصيانة/الإصلاحات
ليست صالحة للتطبيق. إن prepIT•L2P هي مادة كاشفة مخبرية – لا تطلب عمل صيانة أو تصليح.

خصائص الأداء
- يُستخدم prepIT•L2P من أجل تنقية الحمض النووي الجيني DNA من مجموعات الجمع Oragene وORAcollect.
- prepIT•L2P متوفر بأحجام متعددة، تعتمد على عدد التحضيرات المطلوبة. على سبيل المثال،

رمز المُنتَج	حجم العينة المُحضَرة	رقم التحضير
PT-L2P-1.5	0.5 ملليلت	75
PT-L2P-5	0.5 ملليلت	200
PT-L2P-45	0.5 ملليلت	2,000

معلومات المريض

براءة الاختراع www.dnagenotek.com/legalnotices

الضمانات

تجدون أحكام وشروط جميع منتجات شركة DNA Genotek على
http://www.dnagenotek.com/ROW/terms/index.html

يضمن المُزوِد للمُستلِم في وقت التسليم، للمُستلِم أو المندوب عن المُستلِم أو الناقل المُشترَك، الأمور التالية: (أ) أن المُنتجات جيدة وقابلة للتسويق وخالية من أي عيوب، (ب) أن جميع المنتجات متوافقة مع المواصفات المحددة في القائمة على المنتجات، بما في ذلك المعلومات المضمنة في أي شهادة تحليل، على المُلصَق أو على العبوة أو في العبوة أو في دليل الإرشادات أو أي وثائق وأوراق أخرى مصاحبة للمنتجات أو مُزوَدة بشكل منفصل وتم تسليمها للمُستلِم. الضمانات المُقدَمة هنا ليست قابلة للنقل وليست متوفرة لأي عميل أو مُستخدِم بعد المُستلِم. لا يُقدِم المُزوِد أي ضمانات أخرى صريحة أو ضمنية. وهنا لا يعترف المُزوِد بأي ضمانات صريحة أو ضمنية، بغض النظر إن كانت مفروضة من خلال القانون أو لا، تشمل أو لا تشمل تحديدات، أو الضمانات الضمنية للتسويق والصلاحية لسبب مُحدَد. يُستثنى من ذلك، كما ذُكِرَ سابقاً في هذه الفقرة، تقديم جميع المُنتجات مع أو بدون الخدمات المُقدَمة من قِبَل المُزوِد ومن موظفيه وعُملائه "كما هي" و "في المكان التي هي فيه". لا يتحمل المُزوِد مسؤولية النتائج الناجمة عن استخدام المُستلِم للمُنتَج.

حل المشكلات

اتصل بقسم الدعم الفني في شركة DNA Genotek على support@dnagenotek.com أو اتصل بهاتف رقم +1 (613) 723-5757 الخيار رقم 6.

prepIT®البروتوكول المعملي
من أجل التنقية اليدوية للحمض النووي DNA في عينة 0.5 ملليلتر

بروتوكول ترسيب الإيثانول وكاشف prepIT®•L2P لتنقية الحمض النووي الجيني genomic DNA من عائلة مجموعات الجمع ®Oragene و®ORAcollect.

يوضح البروتوكول التالي كيفية تنقية الحمض النووي DNA في عينة صغيرة 500 µL.

الكواشف المضمنة

prepIT®•L2P (رقم الكتالوج: PT-L2P)

المُعِدات والكواشف (غير مضمنة)

- جهاز الدفع المركزي الدقيق (ميكرو) يستطيع أن يدور على تسارع 15000 × g
- 1.5 ملليلتر أنابيب دقيقة (على سبيل المثال، الأكسجين #MCT-150-C)
- حاضنة هواء أو ماء في درجة حرارة 50 درجة
- إيثانول (من95% إلى 100%) في درجة حرارة الغرفة
- إيثانول (70%) في درجة حرارة الغرفة
- احتياط تخزين من الحمض النووي
DNA: TE (10 mM Tris-HC1, 1 mM EDTA, pH 8.0) أو محاليل مشابهة

الطريقة:

خطوات التنقية	ملاحظات
1. أخلط العينة في مجموعة DNA Genotek من خلال التقليب والرج الهادئ لمدة ثوانٍ معدودة.	• هذا للتأكد من أن العينات اللزجة قد مُزجت جيدًا.
2. ضع العينة في الحاضنة في درجة حرارة 50 درجة في الحمام المائي ولمدة لا تقل عن ساعة واحدة أو في حاضنة الهواء لمدة لا تقل عن ساعتين. **ملاحظة:** يُفضل استخدام الحاضنة الهوائية عن الحمام المائي لإن أنابيب العينات قد تطفو فوق سطح الماء في الحمام المائي. إذا كان ولا بد من استخدام الحمام المائي، فتأكد حينها من أن جزء الأنبوب المحتوي على العينة يبقى مغمورًا في الماء.	• تهدف هذه الخطوة في المعالجة الحرارية إلى التأكد من أن الأحماض النووية DNA يتم تحريرها بشكل مناسب وأن يتم إشال تفعيل إنزيمات هدم أحماض النيكلين. • يمكن تنفيذ هذه الخطوة في الحاضنة في أي وقت بعد جمع العينة وقبل تنقيتها. • يجب أن يكون تأثير الحاضنة على العينة بالكامل في الأنبوب الأصلي للجمع قبل تقسيمها، وذلك لضمان التجانس في العينة. • يمكن للعينة أن تدخل الحاضنة في درجة حرارة 50 درجة طوال الليل إذا كان ذلك مناسبًا أكثر. • مطلوب مدة أطول في حالة الحاضنة الهوائية لأن التوازن الحراري يكون أبطأ منه في الحاضنة المائية.
3. نقل 500 ميكرو لتر من العينة المُمتزجة إلى 1.5 ملليلتر أنبوب الطرد المركزي الدقيق (ميكرو).	• يمكن حفَظ باقي العينة في درجة حرارة الغرفة أو يمكن تجميدها في درجات حرارة (15- درجة إلى 20- درجة).

خطوات التنقية	ملاحظات
4. لتحضير عينة 500 ميكرو لتر، أضف 20 ميكرو لتر (1 من25 جزء من الحجم) من PT-L2P إلى أنبوب الطرد المركزي الدقيق (ميكرو) واخلط بالخلاط لعدة ثواني.	• ستصير العينة عكرة حيث تترسب الشوائب والمثبطات.
5. أدخلها الحاضنة في الثلج لمدة 10 دقائق.	• يمكن الاستعاضة عن الحاضنات في درجة حرارة الغرفة، ولكن ستقل الفاعلية نوعًا ما فيما يتعلق بإزالة الشوائب.
6. استخدم الطرد المركزي في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق بتسارع 15000 × g	• يمكن أن تكون المدة الأطول للطرد المركزي (إلى 15 دقيقة) مفيدة في تقليل العكرة (عالية A_{320}) في محلول الحمض النووي DNA النهائي.
7. انقل بحذر المادة الطافية الواضحة باستخدام أداة ماصة وضعه في أنبوب الطرد المركزي النظيف. تخلص من الكُتلة التي تحتوي على الشوائب.	• تحتوي الكُتلة على شوائب عكرة. إذا حدث بالصدفة أي عارض مُؤثِر، قم بإعادة عملية الطرد المركزي للأنبوب.
8. أضف 600 ميكرو لتر من الإيثانول (نسبة 95% إلى 100%) في درجة حرارة الغرفة إلى 500 ميكرو لتر من المادة الطافية. واخلطهما بلطف بالتقليب 10 مرات.	• في أثناء الخلط مع الإيثانول، سيترسب الحمض النووي DNA. وقد يظهر هذا على شكل تخثر لألياف الحمض النووي DNA أو على شكل ترسبات رقيقة، ويعتمد هذا على كمية الحمض النووي DNA في العينة. • وحتى لو ظهر التخثر، فإن الحمض النووي DNA سيرجع صالحًا إذا تم إتباع الخطوات التالية بحذر.
9. أترك العينة تبقى في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق لتسمح للحمض النووي DNA بالترسب كاملاً.	• لا تدخله الحاضنة في درجة حرارة 20- درجة لإن الشوائب قد تترسب مع الحمض النووي DNA حينها أيضًا.
10. ضع الأنبوب في جهاز الطرد المركزي الدقيق (ميكرو) في اتجاه معروف. واستخدم الطرد المركزي في درجة حرارة الغرفة لمدة 2 دقائق على تَسارع 15000 × g.	• على سبيل المثال، ضع كل أنبوب في جهاز الطرد المركزي الدقيق (ميكرو) بحيث يكون الجزء عند مِفصَل الغطاء بالاتجاه البعيد عن مركز القطعة الدَوارة. بعد عملية الطرد المركزي، يمكن وضع الكُتلة (حتى وإن كانت صغيرة جدًا وبالكاد تُرى بالعين المُجرَدة) على حافة الأنبوب تحت المِفصَل.
11. أزل بحذر المادة الطافية باستخدام حافة أداة المص وتخلص منها. انتبه لتجنب تخريب كُتلة الحمض النووي DNA.	• تحتوي هذه الكُتلة على الحمض النووي DNA. تعني الخسارة في الكُتلة خسارة في الحمض النووي DNA. • تدوير الأنبوب بحيث تكون الكتلة على الجدار العلوي مما يسمح لك بتحريك حافة الأداة الماصة بأمان على طول الجدار السفلي وبالتالي إزالة المادة الطافية. • تحتوي المادة الطافية على شوائب ولذلك يجب أن تُزال كاملة قدر الإمكان. • التجفيف الزائد للكُتلة تجعل من الحمض النووي DNA صعب الذوبان.

خطوات التنقية	ملاحظات
12. غسل الإيثانول: أضف بحذر 250 ميكرو لتر من الإيثانول بتركيز 75%. واتركه في درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقة واحدة. أزل الإيثانول تمامًا بدون تخريب الكُتلة.	• من المهم إزالة جميع الإيثانول من العينة. قد يؤثر نقل الإيثانول على نتائج الفحص بشكل كبير. • انتبه لعدم تخريب كُتلة الحمض النووي DNA. • قد تكون كُتلة الحمض النووي DNA صغيرة. • إذا انفصلت الكُتلة، قم بعملية الطرد المركزي لمدة 5 دقائق في درجة 15000 × g. • بعد إزالة الإيثانول بتركيز 70%، يمكن تدوير الأنبوب تحت تأثير نبضات لإزالة ما تبقى من الإيثانول.
13. أضف 100 ميكرو لتر من محلول TE (انظر صفحة رقم 3) لإذابة كُتلة الحمض النووي DNA. واخلطه بالخلاط لمدة 5 ثواني على الأقل.	• عند طلب تركيز أعلى من الحمض النووي DNA، فيمكن استخدام 50 ميكرو لتر من TE. • ملاحظة: قد تؤدي الكميات الكبيرة من الحمض النووي DNA ذات الوزن الجزيئي العالي إلى بطأ في الترطيب (والإذابة) بشكل كامل. • يسبب الترطيب غير الكامل للحمض النووي DNA عدم الدقة في تقدير تركيز الحمض النووي DNA وفشل في تطبيقات الفصل مثل تطبيقات PCR.
14. للتأكد من إعادة الترطيب الكامل للحمض النووي DNA (الكتلة واللطخة)، قم بوضعه في الحاضنة في درجة حرارة الغرفة طوال الليل ثم قم بمزجه بالخلاط في درجة حرارة 50 درجة لمدة ساعة واحدة مع الخلط بين الفينة والأخرى.	• يسبب إعادة الترطيب غير الكامل للحمض النووي DNA عدم الدقة في تقدير تركيز الحمض النووي DNA وفشل مُحتمَل في تطبيقات الفصل مثل تطبيقات PCR.
15. خيارات الحِفظ للحمض النووي المُرطَب بشكل كامل: a. يُنصح تخزينه في TE بشكل مُجزأ في درجة حرارة 20- درجة لمدة طويلة، أو b. في TE في درجة حرارة 4 درجة لمدة تصل إلى شهرين.	• يسبب تجميد الحمض النووي DNA النقي في TE ترسب الحمض النووي DNA. عند ذوبان عينة الحمض النووي DNA النقي المُجمد، راعي عملية إعادة الترطيب، كما هو مُناقش في الخطة 14.

يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني www.dnagenotek.com للحصول على النسخة الكاملة من كل بروتوكول وبكل لغة إضافية. عد إلى PD-PR-006 من أجل ذلك البروتوكول.

بروتوكول المختبر prepIT®
للتنقية اليدوية للحمض النووي DNA من العينة الكاملة

بروتوكول ترسيب الإيثانول وكاشف prepIT®•L2P لتنقية الحمض النووي الجيني genomic DNA من عائلة مجموعات الجمع Oragene® وORAcollect®.

ملاحظة: يتطلب هذا البروتوكول استخدام جهاز الطرد المركزي القادر على العمل في درجة 3500 × g من أجل الحصول على النتائج الأفضل.

الإجراء موضح لعملية تنقية الحمض النووي DNA من العينة المجمعة الكاملة (تقريبًا من 1 إلى 4 ملليلتر - الحجم الكامل). يجب معايرة الأحجام المُوضحة لما يتناسب مع الحجم الذي تم جمعه.

الكواشف المضمنة

prepIT®•L2P (رقم الكتالوج: PT-L2P)

المُعدات والكواشف (غير مضمنة)

- قم بعملية الطرد المركزي للأنبوب المحتوي على 15 ميكرو لتر والقادر على العمل بـ 3500 × g (أنظر الجدول رقم 2 على ظهر الغلاف)
- الأنابيب المخروطية المحتوية على 15 ملليلتر من البولي بروبيلين (وهي BD Falcon #352196).
- جهاز الدفع المركزي الدقيق (ميكرو) الذي يستطيع أن يدور بتسارع 15000 × g (اختياري)
- 1.5 ملليلتر أنابيب دقيقة (على سبيل المثال، الأكسجين MCT-150-C#)
- حاضنة هواء أو ماء في درجة حرارة 50 درجة
- إيثانول (95% إلى 100%) في درجة حرارة الغرفة
- إيثانول (70%) في درجة حرارة الغرفة
- احتياط تخزين من الحمض النووي DNA: TE (10 mM Tris-HC1, 1 mM EDTA, pH 8.0) أو محاليل مشابهة

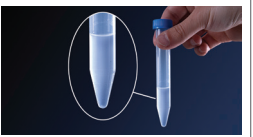
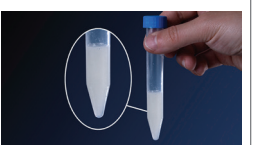
الفحص المسبق للتنقية

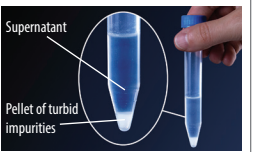
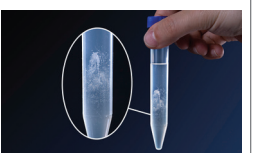
قم بوزن العينة لتقدير كمية اللعاب التي أعطاها الشخص المفحوص (أنظر جدول 1: غير مطلوب في OC-100 و OCR-100). كمية اللعاب المجموعة تتناسب طرديًا مباشرة مع كمية الحمض النووي DNA المُستخرَد. كمثال على ذلك، لو أن الشخص المفحوص قد قدم أقل من 2 ملليلتر من اللعاب، فإنك تتوقع أن تسترد ناتج قليل من هذه العينة. وبالمثل، إذا قدم الشخص المفحوص كمية تزيد عن 2 ملليلتر من اللعاب فإن الناتج المُستخرَد سيكون أعلى.

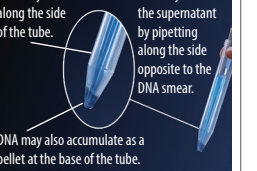
وزن المجموعة (بدون العينة)	الجدول رقم 1	
عندما تصل العينة إلى المُختبر، فإننا نقترح وزنها من أجل معرفة إذا كانت الكمية المناسبة من اللعاب قد تم تزويدها من قِبَل الشخص المفحوص. يمكنك توقع بعض التباين حسب الأشخاص المفحوصين كما يتم التحديد حسب وزن المجموعة المُستَهدَفة مع العينة. الوزن المتوسط لأي مجموعة فارغة مُتضمّنة (في جدول رقم 1). لحساب كمية العينة المجموعة (افتراض 1 جرام/ملليلتر)، قم بعمل الطرح الحسابي التالي: وزن المجموعة المُحتوية على العينة - وزن المجموعة بدون العينة = كمية العينة المجموعة	رقم المُنتَج	وزن المجموعة (بدون العينة)
	OG-250/ OGR-250	14.15 g
	OG-500/ OGD-500/ OGR-500	6.81 g
	OG-510/ OGD-510	5.83 g
	OG-520	5.41 g
	OG-575/ OGD-575/ OGR-575	5.66 g
	ON-500	6.47 g

الطريقة:

خطوات التنقية	ملاحظات
1. أخلط العينة في مجموعة DNA Genotek من خلال التقليب والرج الهادئ لمدة ثوانٍ معدودة.	• هذا للتأكد من أن العينات اللزجة قد مُزجت جيدًا.
2. ضع العينة في الحاضنة في درجة حرارة 50 درجة في حاضنة الماء ولمدة لا تقل عن ساعة واحدة أو في حاضنة الهواء لمدة لا تقل عن ساعتين. **ملاحظة:** يفضل استخدام الحاضنة الهوائية عن الحاضنة المائية لإن أنابيب العينات قد تطفو فوق سطح الماء في الحمام المائي. إذا كان ولا بد من استخدام الحمام المائي، فتأكد حينها من أن جزء الأنبوب المحتوي على العينة يبقى مغمورًا في الماء.	• هذه الخطوة في المعالجة الحرارية مهمة جدًا لزيادة ناتج الأحماض النووية DNA وللتأكد من أن يتم إفشال تفعيل إنزيمات هدم أحماض النيكلين. • يجب عمل ذلك في أنبوب الجمع الأصلي. • يمكن للعينة أن تُدخل الحاضنة في درجة حرارة 50 درجة طوال الليل إذا كان ذلك مناسبًا أكثر. • يمكن تنفيذ هذه الخطوة في الحاضنة في أي وقت بعد جمع العينة وقبل تنقية الحمض النووي DNA. • مطلوب مدة أطول في حالة الحاضنة الهوائية لأن التوازن الحراري يكون أبطأ منه في الحاضنة المائية

خطوات التنقية	ملاحظات
3. انقل العينة الكاملة في أنبوب طرد مركزي 15 ملليلتر (أنظر الصورة 1). انتبه لحجم العينة.  **الصورة رقم 1:** قبل القيام بالخطوة رقم 4، تأكد من أن العينة الكاملة تم وضعها في حاضنة وتم نقلها إلى أنبوب طرد مركزي 15 ملليلتر نظيف، كما هو مُوضّح.	• يمكن أن يحدث النقل من خلال الصَب (السكب) أو الشفط (المص) باستخدام أداة المص الزجاجية أو البلاستيكية.
4. أضف 1 من 25 جزء من حجم PT-L2P وامزجه بالخلاط لمدة ثواني معدودة. (الصورة رقم 2)  **الصورة رقم 2:** بعد إضافة PT-L2P والوضع في الحاضنة في الثلج لمدة 10 دقائق، ف لن تبقى العينة صافية بعد ذلك، ولكنها ستصير محلول غائم.	• أي: 160 ميكرو لتر لحجم 4 ملليلتر من العينة في كل أنبوب. • ستصير العينة عكرة حيث تترسب الشوائب والمثبطات.
5. أدخلها الحاضنة في الثلج لمدة 10 دقائق.	• يمكن الاستعاضة عن الحاضنات في درجة حرارة الغرفة، ولكن ستقل الفاعلية نوعًا ما فيما يتعلق بإزالة الشوائب.

خطوات التنقية	ملاحظات
6. قم بالطرد المركزي في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق بأقصى سرعة ممكنة. على الأقل 3500 × g. أي جهاز طرد مركزي إن كان متأرجح أو قرص دوار بزاوية إذا كان يستطيع أن ينتج قوة الطرد المركزي تلك، فهو مناسب.  **الصورة رقم 3:** بعد عملية الطرد المركزي، سيكون هناك تراكم للمواد العكرة في قاعدة الأنبوب. ستكون المواد الطافية واضحة ومرئية.	• تقلل زيادة قوة الطرد المركزي من كمية المواد العكرة التي يتم نقلها إلى الحمض النووي DNA المُنقى (صورة رقم 3). • قبل البدء، يجب التأكد من الشركة الصانعة للأنابيب بأن أنابيب الطرد المركزي 15 ملليلتر يمكن أن تتحمل قوة الطرد المركزي تلك. • يمكن تنفيذ مدة أطول لعملية الطرد المركزي (ما يصل إلى 20 دقيقة) إذا كان تقليل العكرة لمحلول لحمض النووي DNA النهائي يُعتَبر أمرًا مهمًا.
7. قم بنقل أغلب المادة الطافية الواضحة بحذر باستخدام أداة المص إلى أنبوب طرد مركزي 15 ملليلتر. تخلص من الكُتلة.	• اترك حجمًا بسيطًا من المادة الطافية لتجنب تخريب الكُتلة. تحتوي الكُتلة على شوائب عكرة.
8. أضف 1.2 من الحجم في درجة حرارة الغرفة من إيثانول (بتركيز من 95% إلى 100%) إلى المادة الطافية الواضحة. واخلطهما بلطف بالتقليب 10 مرات.  **الصورة رقم 4:** بعد إضافة الإيثانول، سيترسب الحمض النووي DNA مما ينتج عنه تخثرات في شكل ألياف حمراء مرئية.	• في أثناء الخلط مع الإيثانول، سيترسب الحمض النووي DNA. الحمض النووي DNA وقد يظهر على شكل تخثرات من ألياف الحمض النووي DNA (أنظر الشكل رقم 4). وحتى لو ظهر التخثر، فإن الحمض النووي DNA سيتم استعادته باتباع الخطوات التالية.
9. قم بترك العينة في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق لتسمح للحمض النووي DNA بالترسب كاملاً.	• لا تدخله الحاضنة في درجة حرارة 20- درجة لإن الشوائب قد تترسب مع الحمض النووي DNA حينها أيضًا.

خطوات التنقية	ملاحظات
10. قم بالطرد المركزي في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق بأقصى سرعة ممكنة. الحد الأدنى هو 3500 × g.	• يجب أن تتوفر السرعة الدنيا للطرد المركزي هي 3500 × g (شاهد الجدول رقم 2 على ظهر الغلاف). أي جهاز طرد مركزي إن كان متأرجحًا أو قرص دوار بزاوية إذا كان يستطيع أن ينتج قوة الطرد المركزي تلك، فهو مناسب.
11. أزل بحذر المادة الطافية باستخدام أداة المص الزجاجية أو البلاستيكية وتخلص منها. انتبه لتجنب تخريب كُتلة الحمض النووي DNA.  **الصورة رقم 5:** قد يؤدي استخدام حافة الأداة الماصة لحك الجدار الداخلي الطولي للأنبوب إلى إظهار وجود لطخة من الحمض النووي DNA.	• قد تحتوي المادة الطافية على شوائب ولذلك يجب أن تُزال كاملة قدر الإمكان. • سيكون الحمض النووي DNA المُترسب موجودًا ككُتلة في قاع الأنبوب واحتمال على شكل لطخة في أسفل الأنبوب (شاهد الشكل رقم 5). • قد تكون لطخة الحمض النووي DNA مستقرة على جانب الأنبوب في الجانب البعيد عن مركز جهاز الطرد المركزي. • يمكن أن يتم تحديد مكان اللطخة باستخدام فحص "الحك". يمكنك التأكد من وجود لطخة الحمض النووي DNA عن طريق حك الجدار الداخلي للأنبوب باستخدام حافة P1000. يمكن أن تكون اللطخة ظاهرة كما هو مُوضح في الشكل رقم 5.
12. غسل الإيثانول: أضف 1 ملليلتر بحذر من الإيثانول 75% إلى الأنبوب بدون تخريب لطخة الكتلة. واتركه في درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقة واحدة. حرك بالتدوير بلطف وأزل الإيثانول بشكل كامل، وانتبه لعدم تخريب الكتلة واللطخة.	• من المهم إزالة جميع الإيثانول من العينة. قد يؤثر نقل الإيثانول على نتائج الفحص بشكل كبير. • انتبه لعدم تخريب كُتلة الحمض النووي DNA. • يمكن تنفيذ الطرد المركزي لمدة قصيرة (أقل من دقيقة واحدة) لتسهيل الإزالة الكاملة للمادة الطافية. • إذا انفصلت الكُتلة بعد خطوة غسل الإيثانول، قم بالطرد المركزي للعينة لمدة 5 دقائق بأعلى سرعة ممكنة. الحد الأدنى هو 3500 × g.

خطوات التنقية	ملاحظات
13. قم بإعادة ترطيب الحمض النووي DNA بإضافة من 0.2 إلى 1 ملليلتر من محلول TE وقم بالخلط بالخلاط لمدة 30 ثانية. بالنسبة لـ OC-100 و OCR-100، قم بإعادة ترطيب الحمض النووي DNA بإضافة 0.2 ملليلتر من محلول TE وقم بخلط العينة بالخلاط لمدة 30 ثانية. **الصورة رقم 6:** خلط العينة لمدة 30 ثانية يسمح باسترجاع الحمض النووي DNA المُلطّخة على جانب الأنبوب. سيبقى الحمض النووي DNA بوزن جزيئي عالي.	• التجفيف الزائد للكتلة (أكثر من 10 دقائق) واستخدام أقل من 500 ميكرو لتر من محلول TE يمكن أن يُصعب عملية إعادة الترطيب (الذوبان) للحمض النووي ويمكن تقليل الناتج أو يجعل عملية تقدير الكمية صعبة. • سيكون الحمض النووي DNA المُترسب موجودًا ككُتلة في قاع الأنبوب واحتمال على شكل لطخة في أسفل الأنبوب. • لضمان استرجاع أقصى قدر ممكن من الحمض النووي DNA، فيجب خلط العينة بالخلاط بعد إضافة مذيب الحمض النووي DNA (محلول TE). الخلط بالخلاط يضمن أن يتم استرجاع الحمض النووي DNA المُلطّخ على جانب الأنبوب (الشكل رقم 6). • لا تتردد في خلط العينة لأن الحمض النووي DNA المتبقي يملك وزن جزيئي عالي.
14. للتأكد من إعادة الترطيب الكامل للحمض النووي DNA (الكتلة واللطخة)، قم بوضعه في الحاضنة في درجة حرارة الغرفة طوال الليل ثم قم بمزجه بالخلاط في درجة حرارة 50 درجة لمدة ساعة واحدة مع الخلط بين الفينة والأخرى.	• يسبب إعادة الترطيب غير الكامل للحمض النووي DNA عدم الدقة في تقدير تركيز الحمض النووي DNA وفشل مُحتمَل في تطبيقات الفصل مثل تطبيقات PCR.
15. انقل الحمض النووي DNA المُرطّب إلى أنبوب طرد مركزي 1.5 ملليلتر للتخزين.	
خطوة اختيارية: a. استخدم الطرد المركزي للحمض النووي DNA المُرطّب في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقائق بتسارع 15000 × g. b. قم بنقل المادة الطافية إلى أنبوب طرد مركزي 1.5 ملليلتر بدون تخريب الكُتلة.	• لاحظ أن الكُتلة تحتوي على مادة عكرة غير قابلة للذوبان. • من أجل زيادة استرجاع الحمض النووي DNA للحد الأقصى، تأكد من أن الحمض النووي DNA تم إعادة ترطيبه بشكل كامل (خطوة 14) قبل تنفيذ خطوة الطرد المركزي. • تضمن خطوة الطرد المركزي أن يتم إزالة المادة العكرة المتبقية من عينة الحمض النووي DNA. • يجب أخذ الحذر بعدم تخريب الكُتلة عند نقل المادة الطافية الواضحة في أنبوب نظيف.

خطوات التنقية	ملاحظات
16. خيارات الحفظ للحمض النووي DNA المُرطّب الكاملة: a. يُنصح تخزينه في TE بشكل مُجزأ في درجة حرارة 20- درجة لمدة طويلة، أو b. في TE في درجة حرارة 4 درجة لمدة تصل إلى شهرين.	• تجميد الحمض النووي DNA النقي في TE قد يسبب ترسب الحمض النووي DNA. عند ذوبان عينة الحمض النووي DNA النقي المُجمد، راعي عملية إعادة الترطيب، كما هو مُناقش في الخطة 14.

يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني www.dnagenotek.com للحصول على النسخة الكاملة من كل بروتوكول بكل لغة إضافية. عد إلى PD-PR-015 من أجل ذلك البروتوكول.

البروتوكول المعملي prepIT®
من أجل التنقية اليدوية للحمض النووي DNA في عينة 0.5 ملليلتر باستخدام الصفيحة المحتوية على 96 تجويف.

بروتوكول ترسيب الإيثانول وكاشف prepIT®•L2P لتنقية الحمض النووي الجيني genomic DNA من عائلة مجموعات الجمع Oragene® و ORAcollect®.

البروتوكول التالي المُوضّح خطوة بخطوة يصف كيفية تنقية 500 ميكرو لتر من أجزاء من عدة عينات في نفس الوقت باستخدام الصفيحة المحتوية على 96 تجويف.

الكواشف المضمنة

- prepIT®•L2P (رقم الكتالوج: PT-L2P)

المُعِدات والكواشف (غير مضمنة)

- الصفيحات والأغطية - الصفيحات المحتوية على 96 تجويف (أي: Axygen Cat. No. P-DW-20-C) مع الصفيحة المحتوية على 96 تجويف قابلة لإعادة الاستخدام أو ورقة غطاء لاصق (أي: Axygen Cat. No. AM-2ML-RD-IMP)
- قم بعملية الطرد المركزي لوعاء يحتوي على الصفيحات المحتوية على 96 تجويف). قادرة على العمل في الحد الأدنى بـ 3500 × g. (أي: centrifuge model Sorvall RT 6000D برقم 11093 PN وصلة للصفيحة المحتوية على 96 تجويف)
- مُجمدة في درجة حرارة 20- درجة
- Blue Dextran (1 ملليجرام/ملليلتر) (Sigma-Aldrich Cat. No. D5751)
- أيزوبروبانول على درجة حرارة الغرفة
- 70% إيثانول على درجة حرارة الغرفة
- احتياط تخزين من الحمض النووي DNA: TE (10 mM Tris-HC1, 1 mM EDTA, pH 8.0)
- أداة ماصة تحتوي على 8 أو 2 قناة (اختياري)

الطريقة:

خطوات التنقية	ملاحظات
1. أخلط العينة في مجموعة DNA Genotek من خلال التقليب والرج الهادئ لمدة ثوانٍ معدودة.	• هذا للتأكد من أن العينات اللزجة قد مُزجت جيدًا.

خطوات التنقية	ملاحظات
2. ضع العينة في الحاضنة على درجة حرارة 50 درجة في حاضنة الماء ولمدة لا تقل عن ساعة واحدة أو في حاضنة الهواء لمدة لا تقل عن ساعتين. **ملاحظة:** يُفضل استخدام الحاضنة الهوائية عن الحاضنة المائية لإن أنابيب العينات قد تطفو فوق سطح الماء في الحمام المائي. إذا كان ولا بد من استخدام الحمام المائي، فتأكد حينها من أن الجزء من الأنبوب المحتوي على العينة يبقى مغمورًا في الماء.	• تهدف هذه الخطوة في المعالجة الحرارية إلى التأكد من أن الأحماض النووية DNA يتم تحريرها بشكل مناسب وأن يتم إفشال تفعيل إنزيمات هدم أحماض النيكلين. • يمكن تنفيذ هذه الخطوة في الحاضنة في أي وقت بعد جمع العينة وقبل تنقيتها. • يجب أن يكون تأثير الحاضنة على العينة الكاملة في الأنبوب الأصلي للجمع قبل تجزئتها، وذلك لضمان التجانس في العينة. • يمكن للعينة أن تدخل الحاضنة في درجة حرارة 50 درجة طوال الليل إذا كان ذلك مناسبًا أكثر. • مطلوب مدة أطول في حالة الحاضنة الهوائية لأن التوازن الحراري يكون أبطأ منه في الحاضنة المائية
3. أضف 20 ميكرو لتر من PT-L2P لكل تجويف في الصفيحة.	
4. نقل 5 ميكرو لتر من Blue Dextran (1 ميلليجرام/ملليلتر) لكل تجويف في الصفيحة.	• يساعد Blue Dextran على جعل كُتلة الحمض النووي DNA أكثر وضوحًا ومرئية في أثناء خطوة ترسيب الحمض النووي DNA.
5. نقل 500 ميكرو لتر من العينة إلى كل تجويف.	
6. صفيحة تغطية مع ورقة غطاء لاصق أو صفيحة قابلة للاستخدام. اضغط على المكان لإحكام الإغلاق. أخلطهما يدويًا بالتقليب 5 مرات.	• تأكد من أن الإغلاق مُحكَم لكل تجويف. • ستصير العينة عكرة حيث تترسب الشوائب والمثبطات.
7. أدخلها الحاضنة على درجة حرارة 20- درجة لمدة 10 دقائق.	
8. استخدم الطرد المركزي للصفيحة في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق بتسارع 2400 × g.	• يُنصح بأن تُجرى جميع خطوات الطرد المركزي في البروتوكول بتسارع 2400 × g. ولكن إذا كان الطرد المركزي لا يصل إلى قدرة 2400 × g فإنه يمكن قبول الطرد المركزي 3500 × g كحد أدنى.
9. في أثناء الطرد المركزي، قم بوضع اللواصق المكتوبة على صفيحة ثانية محتوية على 96 تجويف.	
10. إذا توقف الطرد المركزي، قم بنقل 450 ميكرو لتر من المادة الطافية من الصفيحة الأولى إلى الصفيحة الثانية. انتبه لعدم تخريب الكُتلة.	• تحتوي الكُتلة على شوائب عكرة. تخلص من الصفيحة المحتوية على الكُتل في حال نقل المادة الطافية.
11. أضف 350 ميكرو لتر من الإيزوبروبانول (درجة حرارة الغرفة) إلى الصفيحة الجديدة المحتوية على المادة الطافية.	

خطوات التنقية	ملاحظات
12. صفيحة تغطية مع ورقة غطاء لاصق أو صفيحة قابلة للاستخدام. اضغط على المكان لإحكام الإغلاق. واخلطهما يدويًا بالتقليب البطيء 10 مرات. ضعهما في الحاضنة في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.	• في أثناء الخلط مع الإيزوبروبانول، سيترسب الحمض النووي DNA. وقد يظهر هذا على شكل تخثر لألياف الحمض النووي DNA أو على شكل ترسبات رقيقة، ويعتمد هذا على كمية الحمض النووي DNA في العينة. • وحتى لو ظهر التخثر، فإن الحمض النووي DNA سيرجع صالحًا إذا تم إتباع الخطوات التالية بحذر.
13. استخدم الطرد المركزي للصفيحة في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق بتسارع 2400 × g.	
14. قم بإزالة المادة الطافية قدر الإمكان بحذر من كل تجويف بدون تخريب الكُتلة. تخلص من المادة الطافية.	• يجب عمل هذه الخطوة باستخدام أداة ماصة ذات حافة واحدة لتجنب تخريب الكُتلة. قد تُعلّق بعض الكُتل على جانب التجويف، لهذا كن حذرًا بعدم إزالتها بواسطة الأداة الماصة. • تحتوي هذه الكُتلة على الحمض النووي DNA. تعني الخسارة في الكُتلة خسارة في الحمض النووي DNA.
15. أضف 400 ميكرو لتر من إيثانول 70% (درجة حرارة الغرفة) إلى كل تجويف.	• انتبه لعدم تخريب كُتلة الحمض النووي DNA. • كُتلة الحمض النووي DNA قد تكون صغيرة. • يساعد غسل الإيثانول 70% على إزالة المثبطات المتبقية.
16. صفيحة تغطية مع ورقة غطاء لاصق أو صفيحة قابلة للاستخدام. اضغط على المكان لإحكام الإغلاق. وامزج عن طريق خلاط قوي.	
17. استخدم الطرد المركزي للصفيحة في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق بتسارع 2400 × g.	
18. قم بإزالة كل المادة الطافية بحذر من كل تجويف بدون تخريب الكُتلة. تخلص من المادة الطافية.	• لتجنب تخريب الكُتلة، يُنصَح باستخدام أداة ماصة ذات قناة واحدة في هذه الخطوة. • من المهم إزالة جميع الإيثانول من العينة. قد يؤثر نقل الإيثانول على نتائج الفحص بشكل كبير.
19. يجب القيام بالطرد المركزي بشكل نبضات للصفيحة لمدة 20 ثانية لجمع أي إيثانول متبقى.	
20. باستخدام الأداة الماصة، قم بإزالة كل الإيثانول المتبقي وجفف الصفيحة بالهواء لمدة 5 دقائق.	• لتجنب تخريب الكُتلة، يُنصَح باستخدام أداة ماصة ذات قناة واحدة في هذه الخطوة.
21. أضف من 50 إلى 100 ميكرو لتر من محلول TE إلى كل تجويف وغطي الصفيحة باستخدام ورقة غطاء لاصقة أو صفيحة قابلة لإعادة الاستخدام.	

خطوات التنقية	ملاحظات
22. قم بالخلط بقوة لضمان أن يتم طرد وإعادة ترطيب أي كُتلة على جانب التجويف. ضع الصفيحة على الجهاز الهزاز لمساعدة إعادة الترطيب الكامل لكتلة الحمض النووي DNA طوال الليل.	• من أجل زيادة معدة ترطيب الحمض النووي DNA وزيادة الاسترجاع، يمكن وضع العينة في الحاضنة لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة 50 درجة مع الخلط بالخلاط بين الفينة والأخرى.
23. خيارات الحفظ للحمض النووي المُرطّب الكاملة: a. يُنصح تخزينه في TE بشكل مُجزأ في درجة حرارة 20- درجة لمدة طويلة، أو b. في TE في درجة حرارة 4 درجة لمدة تصل إلى شهرين	• يسبب تجميد الحمض النووي DNA النقي في TE ترسب الحمض النووي DNA. عند ذوبان عينة مُجمّدة من الحمض النووي DNA النقي، اتبع الإرشادات المتعلقة بالتسخين في الملاحظة التابعة لخطوة 22 لضمان إعادة الترطيب الكامل.

يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني www.dnagenotek.com للحصول على النسخة الكاملة من كل بروتوكول وبكل لغة إضافية. عد إلى PD-PR-052 من أجل ذلك البروتوكول.

تحديد كمية الحمض النووي DNA

بواسطة طريقة الفلوروسينس

الفحوصات المُستخدِمة لأصباغ الفلوروسينت هي أكثر تخصصًا من الامتصاص على 260 نانوميتر لتحديد كمية الحمض النووي DNA الثنائي (dsDNA) في عينة الحمض النووي DNA. نحن ننصح باستخدام أصباغ الفلوروسينت مثل PicoGreen® أو SYBR® Green 1 لتحديد الحمض النووي الثنائي dsDNA لأن هناك تداخل أقل للتلوث RNA. بروتوكول غير باهظ الثمن باستخدام SYBR Green 1 مشروح في PD-PR-075، تحديد كمية الحمض النووي DNA باستخدام SYBR Green 1 Dye وقارئ صفيحة دقيقة (ميكرو)[1]. وكبديل، هناك مجموعة متوفرة اقتصادية مثل PicoGreen dsDNA Assay Kit (Cat. No. Q-33130) Invitrogen's Quant-iT™ يمكن استخدامها. لكل بروتوكول، ننصح بتخفيف الحمض النووي DNA النقي بنسبة 1:50 بمحلول TE وباستخدام 5 ميكرو لتر في فحص تحديد الكمية.

بواسطة طريقة الامتصاص

إذا اخترت تحديد كمية الحمض النووي DNA بطريقة الامتصاص، فإننا ننصح أولاً بمعالجة العينة النقية بواسطة RNase لتحليل تلويث RNA ثم إزالة جزيئات RNA باستخدام ترسيب الإيثانول للحمض النووي DNA. البروتوكول المُفضل مشروح في PD-PR-040، إزالة RNA باستخدام double-RNase digestion[2] . الرجاء ملاحظة أن الحمض النووي DNA من العينة الفموية يحتوي على كمية أكبر من RNA من ال موجودة في عينات الدم. تأكد من أن الحمض النووي DNA المترسب بواسطة الكحول يذوب كاملاً قبل قراءة الامتصاص.

عامل التحويل: امتصاص 1.0 على 260 نانوميتر يتعلق بتركيز 50 نانوجرام/ميكرو لتر (50 ميكروجرام/ميكرو لتر) لحمض نووي مزدوج dsDNA نقي.

تأكد من أن قِيَم الامتصاص ضمن المجال الخطي لجهاز مقياس الطيف. إعادة تخفيف وإعادة قياس العينات التي تخرج قيمها عن المجال الخطي. راجع شرح الأجهزة لمزيد من المعلومات.

References

1 DNA quantification using the Fluorescence/DNase (F/D) assay. Replaced by DNA quantification using SYBR Green I dye and a micro-plate reader. DNA Genotek. PD-PR-075.

2 RNA removal by double-RNase digestion. DNA Genotek. PD-PR-040.

الطريقة:

1. خفف 10 ميكرو لتر من أجزاء الحمض النووي DNA النقي المُعالَج بواسطة RNase مع 90 ميكرو لتر من TE (بنسبة تخفيف 1/10). أخلط بلطف باستخدام الأداة الماصة لأعلى ولأسفل. انتظر حتى تزول الفقاعات.

2. استخدم TE في الخلية المرجعية (فارغة).

3. قم بقياس الامتصاص على 320 نانوميتر، 280 نانوميتر و260 نانوميتر.

4. احسب تصحيح قيم A_{280} وA_{260} من خلال طرح الامتصاص عند 320 نانوميتر (A_{320}) من قِيَم A_{280} وA_{260}.

5. تركيز الحمض النووي DNA بوحدة نانوجرام/ميكرو لتر = تصحيح A_{260} × 10 (عامل التخفيف) × 50 (عامل التحويل).

6. نسبة $A_{260/280}$: قِسِم A_{260} المُصححة على A_{280} المُصحَحة.

مثال

1. افترض أن القيمة المقاسة هي A_{320}= 0.025، فإن A_{280}= 0.175 وA_{260}= 0.295

تركيز الحمض النووي DNA للعينة غير المُخففة ستكون:
$(A_{320} - A_{260})$ × 10 [عامل التخفيف] × 50 [عامل التحويل]
= (0.025 - 0.295) × 10 × 50
= 0.270 × 10 × 50
= 135 نانو جرام/ميكرو ليتر أو 135 ميكرو جرام/ملليلتر

2. النسبة المُصحَحة ستكونA_{280}/A_{260}:
$(A_{320} - A_{260}) \div (A_{320} - A_{280})$
= (0.025 - 0.296) ÷ (0.025 - 0.175)
= 0.270 ÷ 0.150
= 1.80

الجدول رقم 2: حساب قوة الطرد من خلال نصف القطر وسرعة القرص الدوار

من أجل الوصول إلى تسارع 3500 × g، فإنه عليك اختيار سرعة الدوران (RPM: دورة في الدقيقة) والتي تكون ملائمة لحجم القرص الدوار لديك. في الأسفل يُشار إلى الدمج بين سرعة الدوران ونصف قطر القرص الدوار

أي أنه إذا كان نصف قطر القرص الدوار في جهاز الطرد المركزي لديك 10 سم، فإنه عليك اختيار سرعة دوران 6000 دورة في الدقيقة على الأقل. تذكر أن 3500 × g هي الحد الأدنى المطلوب. تأكد من تدوير العينات على أقصى سرعة ممكنة يستطيعها جهاز الطرد المركزي لديك، وأن الأنابيب لديك تستطيع تحمل القوة الناتجة.

الجدول رقم 2: نصف قطر القرص الدوار (سم)												
RPM	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
4,000	1,253	1,432	1,611	1,790	1,049	1,969	2,148	2,328	2,507	2,865	3,044	3,223
4,500	1,586	1,813	2,039	2,266	2,493	2,719	2,946	3,172	3,399	3,626	3,852	4,079
5,000	1,958	2,238	2,518	2,798	3,077	3,357	3,637	3,917	4,196	4,476	4,756	5,036
5,500	2,369	2,708	3,046	3,385	3,723	4,062	4,400	4,739	5,077	5,416	5,754	6,036
6,000	2,820	3,223	3,626	4,028	4,431	4,834	5,237	5,640	6,043	6,445	6,848	7,251
6,500	3,309	3,782	4,255	4,728	5,201	5,673	6,146	6,619	7,092	7,564	8,037	8,510
7,000	3,838	4,386	4,935	5,483	6,031	6,580	7,128	7,676	8,225	8,773	9,321	9,870
7,500	4,406	5,036	5,665	6,294	6,924	7,553	8,183	8,812	9,442	10,071	10,700	11,330
8,000	5,013	5,729	6,445	7,162	7,878	8,594	9,310	10,026	10,742	11,459	12,175	12,891
8,500	5,659	6,468	7,276	8,085	8,893	9,702	10,510	11,319	12,127	12,936	13,744	14,553
9,000	6,345	7,251	8,158	9,064	9,970	10,877	11,783	12,689	13,596	14,502	15,409	16,315
g-force												

DNA genotek

www.dnagenotek.com

© 2017 DNA Genotek Inc. جزء من شركة OraSure Technologies, Inc.، جميع الحقوق محفوظة.