

tBioCare™ DNA Extraction Kit

Short Protocol - HPV DNA from COPAN

Self-Vaginal FLOQSwabs



استخراج HPV DNA از COPAN Self-Vaginal FLOQSwabs

آماده سازی نمونه برای استخراج HPV DNA از COPAN Self-Vaginal FLOQSwabs نمونه هایی که توسط خود شخص (self-collected) از واژن-سرویکس (cervico-vaginal) گرفته شده اند به صورت خشک و در دمای اتاق حمل می شوند. نمونه ها در حالت خشک و در دمای اتاق، تا ۱۰ روز پایداری کامل دارند. به محض دریافت نمونه، با رعایت کامل اصول ایمنی کار با نمونه های بیولوژیک، مقدار ۲ میلی لیتر PBS استریل به آن اضافه نموده و پس از ۳۰ تا ۶۰ ثانیه ورتکس، در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری کنید. در این حالت نمونه ها را می توانید تا ۳ ماه در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری کنید. برای نگهداری طولانی مدت از فریزرهای ۲۰- یا ۸۰- استفاده کنید.

قبل از شروع استخراج DNA، تیوب حاوی PBS (حاوی ۲ میلی لیتر محلول PBS) را به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید. سپس با رعایت کامل اصول ایمنی کار با نمونه های بیولوژیک و توصیه های عمومی مذکور در صفحه ۴، مقدار ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول PBS را برداشته و به یک تیوب ۱/۵ یا ۲ میلی لیتری منتقل نمایید. پروتکل استخراج DNA را طبق مراحل صفحه ۱۱ شروع کنید.

استخراج HPV DNA از نمونه های سرویکو-واژینال

در این پروتکل، مراحل استخراج DNA از ۲۵۰ میکرو لیتر نمونه های سرویکو-واژینال گرفته شده توسط خود فرد (self-collected) با FLOQSwab شرح داده می شود. در این پرتکل، مرحله تغلیظ سلولی و یک شستشو قبل از استخراج و خالص سازی DNA انجام می شود.

قبل از شروع

- ترمویلاک را بر روی ۹۵ درجه سانتیگراد تنظیم کنید.
- ذرات مگنتیک E1 را به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس کنید تا به خوبی مخلوط و یکنواخت شود.
- مقدار کافی از مخلوط بافر CB و ذرات مگنتیک E1 به شرح زیر آماده کنید:
 - مقدار ۲۵۰ میکرو لیتر از بافر CB به یک لوله تمیز منتقل کنید.
 - مقدار ۳۰ میکرو لیتر ذرات مگنتیک E1 به بافر CB اضافه کنید. (نکته: حجم ذرات مگنتیک را تغییر ندهید. این ذرات همیشه در حجم ۳۰ میکرو لیتر باید استفاده شود و ارتباطی به حجم نمونه ندارد.)
 - مخلوط فوق را به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید تا کاملاً یکنواخت شود.

پروتکل

- ۱- مخلوط بافر CB و ذرات مگنتیک E1 را طبق توضیحات صفحه قبل در یک لوله ۱/۵ یا ۲ میلی لیتری تمیز آماده کنید.
- ۲- مقدار ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول لوله ی حاوی FLOQSwab را به مخلوط مرحله ۱ اضافه کنید و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید تا به خوبی مخلوط و یکنواخت شود. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلولهای متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

*tBioCare*TM DNA Extraction Kit Short Protocol - HPV DNA from COPAN Self-Vaginal FLOQSwabs



۳- لوله را به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. هر یک دقیقه، لوله ها را سرو-و-ته کنید تا محلول یکنواخت باقی بماند. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلولهای متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

۴- نمونه را به مدت ۲ دقیقه بر روی رک مگنتیک قرار دهید تا ذرات مگنتیک به جداره لوله متصل شوند.

۵- بدون برداشتن لوله از روی رک مگنتیک، درب لوله را باز کرده و محلول رویی را دور بریزید.

۶- مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر CB به تیوب اضافه کنید. درب آن را ببندید و از روی رک مگنتیک بردارید و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلولهای متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

۷- نمونه را به مدت ۲ دقیقه بر روی رک مگنتیک قرار دهید تا ذرات مگنتیک به جداره لوله متصل شوند.

۸- بدون برداشتن لوله از روی رک مگنتیک، درب لوله را باز کرده و محلول رویی را دور بریزید.

۹- مقدار ۱۲۵ میکرولیتر بافر CL به تیوب اضافه کنید. درب آن را ببندید و از روی رک مگنتیک بردارید و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلولهای متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

۱۰- نمونه را در ترموبلاک (ترجیحا ترمومیکسر) با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلولهای متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

۱۱- نمونه را به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید. لوله را به مدت ۱۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید تا تمام محلولهای متصل به دیواره و یا درب لوله به انتهای لوله منتقل شوند.

۱۲- نمونه را به مدت ۲ دقیقه بر روی رک مگنتیک قرار دهید تا ذرات مگنتیک به جداره لوله متصل شوند.

۱۳- بدون برداشتن لوله از روی رک مگنتیک، درب لوله را باز کرده و محلول شفاف شده را به یک لوله ی تمیز منتقل نمایید.

۱۴- می توانید DNA استخراج شده را تا ۲ ساعت در یخچال نگهدارید. در صورتی که آزمایش بعدی بافاصله ی بیشتر از ۲ ساعت انجام می شود، DNA استخراج شده را در دمای ۲۰- ذخیره کنید.

نکته: پروتکل کیت *tBioCare*TM DNA Extraction Kit برای استخراج HPV DNA از نمونه های سرویکو-واژینال با استفاده از COPAN Self-Vaginal FLOQSwabs که در این کتابچه راهنما آمده، با کیت *tBioDx*TM HPV ExtendScreenTM Kit صحه گذاری شده است. برای اطلاعات بیشتر به کتابچه راهنمای کیت فوق مراجعه فرمایید.