

## آماده سازی و ارسال نمونه جهت توالی یابی DNA

### ارسال نمونه و پرایمر

در هنگام ارسال درخواست خود به نکات زیر توجه فرمایید:

- ۱- نام نمونه‌ها و پرایمرها به صورت خوانا و با حروف لاتین بر روی میکرو تیوبها درج شود.
- ۲- نام نمونه‌ها و پرایمرهای ارسالی با نام‌های درج شده در فرم درخواست تطابق داده شده شوند.
- ۳- درب همه میکرو تیوبها (اعم از پرایمر و نمونه) با پارافیلیم کاملاً بسته شود.
- ۴- به جهت جلوگیری از آسیب دیدن نمونه‌ها، آنها را در زیپ کیپ قرار داده و همراه با یخ ارسال شود. (نمونه‌ها و پرایمرها در زیپ کیپ‌های جداگانه قرار داده شوند).
- ۵- در فرم درخواست توالی یابی طول قطعه حاصل از PCR ذکر شود.
- ۶- نمونه‌های PCR دارای یک باند اختصاصی شارپ بوده و در صورت داشتن باند غیر اختصاصی و یا دایمر پرایمر، حتماً تخلیص از روی ژل انجام شود.

**نکته:** منظور از تخلیص محصول PCR، حذف بافر، نوکلئوتیدها و پرایمرها (تکرشته) می‌باشد.

**نکته:** در صورت وجود باند غیر اختصاصی و یا دایمر پرایمر استفاده از تخلیص کننده‌های آنزیمی کارآمد نبوده و منجر به حذف باندهای دو رشته‌ای غیر اختصاصی نمی‌شود.

هنگام طراحی پرایمر به جهت انجام فرایند توالی یابی، از عدم وجود ساختارهای ثانویه اطمینان حاصل نمایید. در صورت وجود دایمر پرایمر، شرایط انجام PCR را بهینه‌سازی نمایید.

در صورت پایین بودن کیفیت باند، شرایط PCR را بهینه‌سازی نمایید. نمونه‌های PCR Product نباید حاوی اسمیر باشند.

تأکید می‌شود که عکس ژل الکتروفورز با کیفیت بالا با پس‌زمینه روشن به همراه فرم درخواست توالی یابی به آدرس الکترونیکی [labskums20@gmail.com](mailto:labskums20@gmail.com) فرستاده شود.

### آماده سازی پرایمر

- ۱- پرایمر با غلظت 10 pmol و به میزان 10 µl برای خوانش مناسب می‌باشد. در صورت وجود چند خوانش با یک پرایمر، به ازای هر خوانش 5 µl پرایمر اضافه تحویل داده شود.
- ۲- در صورت امکان، پرایمرها از ویال جدید برداشته شوند.
- ۳- پرایمرهای Forward و Reverse در ویالهای جداگانه تحویل داده شوند.
- ۴- پرایمرهای مناسب برای توالی یابی باید در خلوص بالا تهیه شده باشند.
- ۵- دمای Tm برای پرایمرها حدود 55-50 °C مناسب می‌باشد.
- ۶- لطفاً توجه داشته باشید که معمولاً حدود 50 نوکلئوتید بین انتهای 3' پرایمر و شروع سکانس به درستی خوانش نمی‌شوند، بنابراین هنگام انتخاب مکان پرایمر خود، این مسئله را نیز در نظر بگیرید.