## تحضير عينات الدم واللعاب المُحملة على بطاقاتFTA

قم بأخذ جزء من عينة الدم أو اللعاب المُحملة على بطاقةFTA على شكل قرص،يبلغ قطره 1.2 مم بواسطة جهازpuncherالمخصص لذلك( شكل ٢.)

**نزع قرص من العينة من على بطاقةFTA**

**جهاز puncher المستخدم في قطع أقراص العينات من بطاقاتFTA**

٢- ضع قرص العينة داخل أنبوبة التكثير سعة 0.2 مل

.

٣- أضف 200 ميكرولتر من محلول تنقية FTA إلى الأنبوبة التي تحتوي على قرص العينة.

**قرص العينة مضافاً إليه محلول تنقية FTA داخل أنبوبة التكثير**

٤- تحضين العينة مع محلول تنقية FTA لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة، مع تقليب العينة يدوياً على فترات.

5-يسحب محلول تنقية FTA باستخدام ماصة أوتوماتيكية،والتخلص منه مع الحفاظ على قرص العينة داخل الأنبوبة.

6-أعد الخطوات أرقام3 ،4، 5مرتين لاستكمال الغسيل بمحلول تنقية FTA ثلاث مرات.

7 -قم بإضافة 200 ميكرولتر من المحلول المنظم ( TE Buffer )إلى الأنبوبة التي تحتوي على قرص العينة

**قرص العينة مضافاً إليه المحلول المنظمTE Buffer**

بتحضين العينة لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة.

9قم بسحب المحلول المنظم TE Buffer باستخدام ماصة أوتوماتيكية والتخلص منه مع الحفاظ على قرص العينة داخل الأنبوبة.

١٠-أعد الخطوات أرقام(7 ،8، 9)مرة واحدة لاستكمال الغسيل بالمحلول المنظم لمرتين.

١١-اترك القرص ليجف داخل الأنبوبة في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة، أو ضع الأنبوبة في الفرن عند درجة حرارة56 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.

**قرص العينة بعد جفافه داخل أنبوبة التكثير**

بعد جفاف قرص العينة تماماً، يُمكن إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل PCRمباشرةً من خلال إضافة المزيج الرئيسي لتفاعل التكثير PCR MasterMix إلى قرص العينة ووضع الأنبوبة في جهاز التدويرالحراري، ومن ثم المُضِ قُدُماً في تفاعل البلمرة المتسلسل حتى النهاية

**قرص العينة مضافاً إليه المزيج الرئيسي لتفاعل التكثير داخل أنبوبة التكثير استعداداً لإجراء تفاعل البلمرة المتسلسل داخل جهاز التدوير الحراري**

# التقدير الكمي للحمض النووي الريبي منزوع الأوكسجين

التقدير الكمي يعني :تحديد كمية، أو تركيز الحمض النووي المستخلص في العينة البيولوجية .تتطلب جميع طرق التحاليل المعملية المستخدمة حالياً لفحص البصمة الوراثية، إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل لزيادة كمية الحمض النووي المُستخلص

وصولاً إلى الكمية التي تسمح بفصل المكونات الوراثية للعينة من خلال الهجرة الكهربية، مما يتطلب تحديد تركيز الحمض النووي في العينات المُستخلصة قبل إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل بهدف الوقوف على تركيز الحمض النووي السليم الصالح للتكثير، ومن ثم ضبط الكمية البادئة