

## Karyotype High Resolution Kit , 40 Tests

- این کیت حاوی دو محلول A و B می باشد.
- محلول A یک استرس در سیستم Amplification ایجاد کرده و محلول B این استرس را رفع می کند که در مجموع موجب تولید کروموزم های بلند "High-Resolution" می شود.

(الف) برای کشت لنفوسیت های خونی (Lymphocyte cultures)  
(ب) برای کشت مغز استخوان (Bone marrow cultures)

### الف) برای کشت لنفوسیت های خونی

- 1- بهترین ساعت برای شروع کشت خون، بین ساعت 13 تا 14 می باشد.
- 2- بعد از 48 ساعت (بین ساعت 15 تا 16 بعد از ظهر)، به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، مقدار  $20\mu\text{l}$  از محلول A اضافه کنید. ( قبل از استفاده، محلول A را به خوبی هم بزنید تا هیچ رسوبی نداشته باشد و بلافاصله پس از مصرف در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری کنید).
- 3- فردا صبح اول وقت (بین ساعت 7 تا 8 صبح) به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، مقدار  $7.5\mu\text{l}$  از محلول B را اضافه کرده و به مدت 5 ساعت دوباره در انکوباتور نگهداری کنید (قبل از استفاده، محلول B را به خوبی هم بزنید تا هیچ رسوبی نداشته باشد و بلافاصله پس از مصرف در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری کنید).
- 4- بعد از گذشت 5 ساعت، سلول ها را به صورت معمولی Harvest کنید. در کنار محیط کشت استاندارد می توانید به این محیط یکی از موردهای زیر را اضافه نمایید:

الف: مقدار  $30\mu\text{l}$  از Colcemid ( $10\mu\text{g/ml}$ ) به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، به مدت 20 تا 30 دقیقه اضافه نمایید. در این حالت تعداد متافازها کمتر ولی کروموزوم ها بزرگ تر خواهند بود.

ب: مقدار  $20\mu\text{l}$  از Colcemid ( $10\mu\text{g/ml}$ ) به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، به مدت 45 تا 60 دقیقه اضافه نمایید. در این حالت تعداد متافازها کمتر ولی کروموزوم ها ترکیبی از بزرگ و کوچک خواهند بود.

\*The chromosome preparation may be performed according to the protocol.\*

### ب) برای کشت مغز استخوان

- 1- 24 یا 48 ساعت بعد از کشت، حدود ساعت 15 تا 16 بعد از ظهر، به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، مقدار  $20\mu\text{l}$  از محلول A را اضافه کنید.
  - 2- فردا صبح زود، به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، مقدار  $7.5\mu\text{l}$  از محلول B را اضافه کرده و به مدت 6 تا 8 ساعت صبر کنید.
  - 3- در آخرین ساعت انکوباسیون، مقدار  $30\mu\text{l}$  از Colcemid ( $10\mu\text{g/ml}$ ) به ازای هر میلی لیتر از محیط کشت، اضافه کنید.
- بقیه مراحل را مشابه پروتکل استاندارد انجام دهید.
  - در صورت لزوم می توانید محیط کشت را شب با Colcemid انکوبه کرده و preparation را فردای آنروز انجام دهید.