



প্রাইমার রিকনস্টিটিউশন, ডাইলিউশন ও সংরক্ষণ নির্দেশিকা

GeneCreate / Sangon Biotech থেকে আসা lyophilized প্রাইমার গ্রহণ, 100 μ M stock ও 10 μ M working solution তৈরি, সংরক্ষণ এবং PCR-এ ব্যবহারের ধাপে ধাপে নির্দেশিকা।

1. প্রাইমার গ্রহণ করার পর করণীয়

প্রতিটি প্রাইমার সাধারণত আলাদা টিউবে **lyophilized** বা শুকনো অবস্থায় সরবরাহ করা হয়। টিউবের গায়ে সাধারণত এই তথ্যগুলো থাকে:

- **Primer Name:** যেমন EFS123F
- **Yield / Scale:** যেমন OD 2.5 / OD 5.0
- **Reconstitution instruction:** যেমন “Add buffer 200 μ L to get 100 μ M concentration”। অর্থাৎ ওই টিউবে 200 μ L Nuclease-free Water (NFW) অথবা TE buffer যোগ করলে প্রাইমারের 100 μ M stock solution তৈরি হবে।

বিশেষভাবে মনে রাখবেন: সব প্রাইমারে 200 μ L পানি যোগ করতে হবে এমন নয়। প্রতিটি টিউবের গায়ে লেখা পরিমাণ আলাদা হতে পারে। প্রতিটি প্রাইমারের টিউবে লেখা পরিমাণ অনুযায়ী NFW বা TE buffer যোগ করুন।

2. গ্রহণের পরপরই বা 1-5 দিনের মধ্যে ব্যবহার করতে চাইলে

ধাপ 1: Spin down করুন

- টিউব খোলার আগে 10-20 সেকেন্ড spin down করুন।
- পরিবহনের সময় শুকনো প্রাইমার টিউবের ঢাকনা বা দেয়ালে লেগে থাকতে পারে। Spin down করলে সম্পূর্ণ প্রাইমার টিউবের তলায় চলে আসবে।

ধাপ 2: 100 μ M stock solution তৈরি করুন

টিউবের গায়ে যে পরিমাণ buffer যোগ করতে বলা হয়েছে, ঠিক সেই পরিমাণ NFW অথবা TE buffer যোগ করুন।

ধাপ 3: প্রাইমার ভালোভাবে দ্রবীভূত করুন

1. টিউবটি কয়েক মিনিট room temperature-এ রাখুন।
2. প্রাইমার সম্পূর্ণভাবে দ্রবীভূত হতে দিন।
3. প্রয়োজনে হালকাভাবে vortex / mix করুন।
4. এরপর আবার অল্প সময় (5-10 সেকেন্ড) spin down করুন।

এখন আপনার কাছে 100 μ M primer stock solution আছে। PCR / qPCR-এর নিয়মিত ব্যবহারের জন্য সরাসরি 100 μ M stock ব্যবহার না করে **10 μ M working solution** বানিয়ে নিন।

সহজ নিয়ম: 1 ভাগ 100 μ M stock + 9 ভাগ পানি / buffer = 10 μ M working solution (যেমন 10 μ L stock + 90 μ L NFW)।

3. প্রাইমার এখন ব্যবহার না করলে

কয়েক মাস বা আরও পরে ব্যবহার করতে চাইলে lyophilized প্রাইমার এখনই দ্রবীভূত করার প্রয়োজন নেই। দীর্ঘমেয়াদি সংরক্ষণের জন্য:

1. প্রাইমার lyophilized / শুকনো অবস্থায় রাখুন।

2. টিউব ভালোভাবে বন্ধ বা sealed রাখুন।
3. -20°C তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করুন।
4. টিউবের ভেতরে যেন পানি বা আর্দ্রতা প্রবেশ না করে।
5. অপ্রয়োজনে বারবার freezer থেকে বের করা ও আবার রাখা এড়িয়ে চলুন।

সঠিকভাবে শুকনো ও sealed অবস্থায় রাখলে প্রাইমারের গুণগত মান দীর্ঘ সময় ভালো থাকে।

4. -20°C থেকে শুকনো প্রাইমার বের করার পর করণীয়

1. -20°C freezer থেকে প্রাইমারের টিউব বের করুন।
2. সঙ্গে সঙ্গে টিউব খুলবেন না।
3. বন্ধ অবস্থায় টিউবটিকে room temperature-এ আসতে দিন।
4. Room temperature-এ আসার পর 10–20 সেকেন্ড spin down করুন।
5. এরপর টিউব খুলুন।
6. টিউবের গায়ে লেখা পরিমাণ অনুযায়ী NFW অথবা TE buffer যোগ করুন।

ঠান্ডা টিউব সরাসরি খুললে বাতাসের জলীয় বাষ্প ঘনীভূত হয়ে condensation তৈরি করতে পারে। এতে lyophilized প্রাইমারে আর্দ্রতা প্রবেশ করে primer degradation হতে পারে।

5. বারবার freeze–thaw এড়িয়ে চলুন

একই primer stock বারবার freezer থেকে বের করে গলানো ও আবার জমানো এড়িয়ে চলা উচিত। এজন্য 100 μM stock solution থেকে ছোট ছোট aliquot তৈরি করে -20°C -এ রাখুন। নিয়মিত PCR-এর জন্য আলাদা 10 μM working solution রাখলে মূল stock বারবার ব্যবহার করতে হবে না।

6. গুরুত্বপূর্ণ সতর্কতা

- Dilution করার আগে অবশ্যই টিউবের গায়ে লেখা নির্দেশনা পড়ুন।
- সব প্রাইমারে একই পরিমাণ পানি বা buffer যোগ করবেন না; manufacturer-এর নির্দেশনা অনুযায়ী যোগ করুন।
- NFW অথবা উপযুক্ত TE buffer ব্যবহার করুন।
- অটোক্লেভ করা pipette tips ও tube ব্যবহার করুন।
- প্রতিটি stock ও working tube-এ primer name, concentration এবং preparation date লিখে রাখুন।
- মূল stock solution বারবার freeze–thaw করবেন না।
- Freezer থেকে বের করার পর ঠান্ডা অবস্থায় lyophilized primer tube খুলবেন না।
- Stock এবং working solution আলাদা করে রাখুন।

Questions before sending samples? WhatsApp / phone +880 1308-222824 • bdgenome@yahoo.com •
bdgenomes.com/guides/primer-handling/