

# استخلاص الحمض النووي الدنا (DNA) من الدم بواسطة Kit

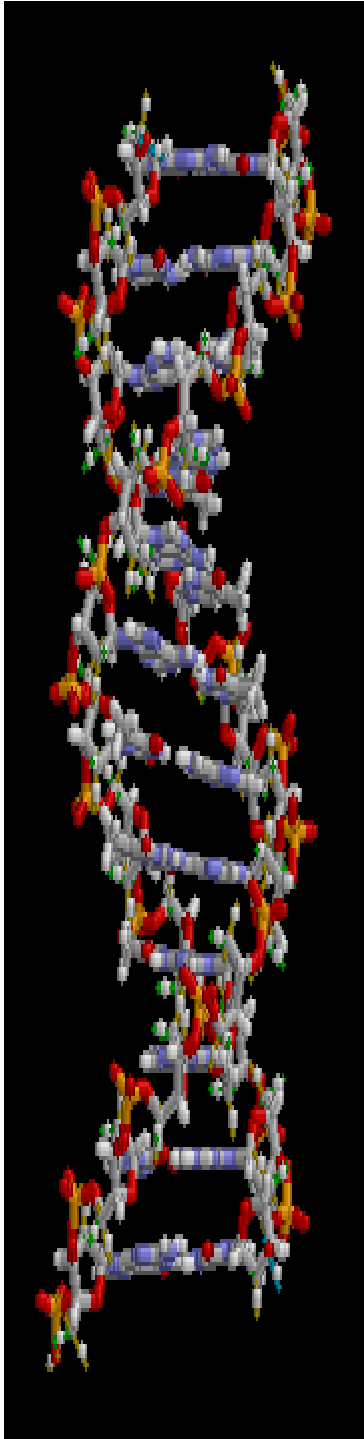
إعداد:- رندا التركي

وحدة الأبحاث الوراثية

المختبر المركزي

برنامج موهبة الصيفي في جامعة الملك سعود ٢٠٠٩م

# المواد



- عينات دم.
- ماء مقطر.
- ماء خالي من الأيونات.
- بلاستيك حافظ للتليج.

# الأجهزة

- جهاز تعقيم وإعدام العينات (Auto clave).

- جهاز طرد مركزي (Centrifuge).

- حمام مائي بهزاز (Shaking Water bath).

- جهاز الرج (Vortex).

- جهاز الطيف المرئي (Spectrophotometer).

- ماصات الكترونية مختلفة الأحجام.

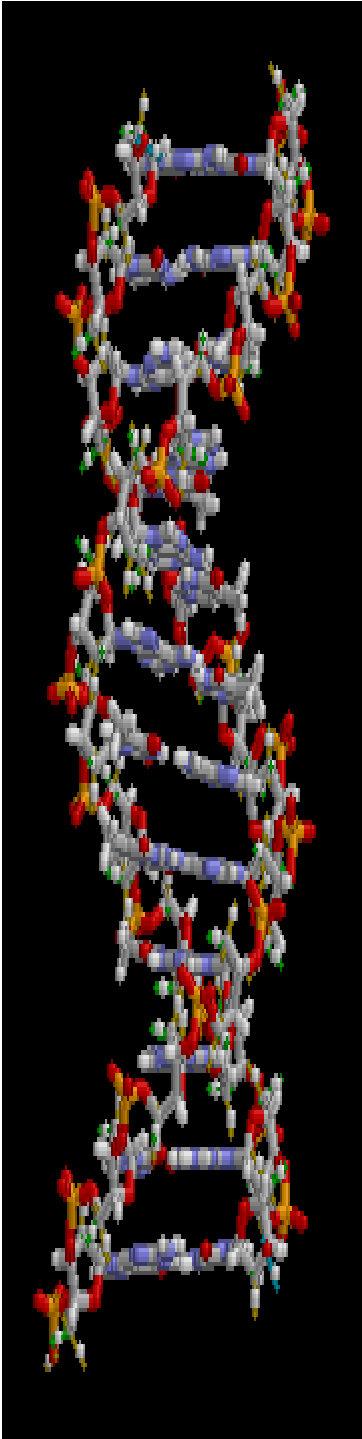
Micro pipette (transfer pipette)  
(2-20 $\mu$ l, 10-100 $\mu$ l, 100-1000 $\mu$ l)

- علبة للتخلص من المستهلكات

Biohazard Container

- أكياس للتخلص من المستهلكات

Biohazard Bags



# الزجاجيات

- أنابيب طرد مركزي بلاستيك سعة (١٥ مل ، ٥٠ مل).  
Plastic centrifuge tubes (15ml, 50ml).

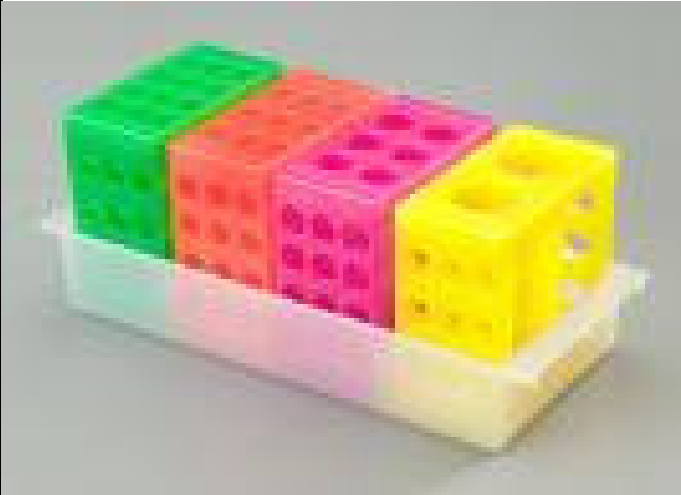
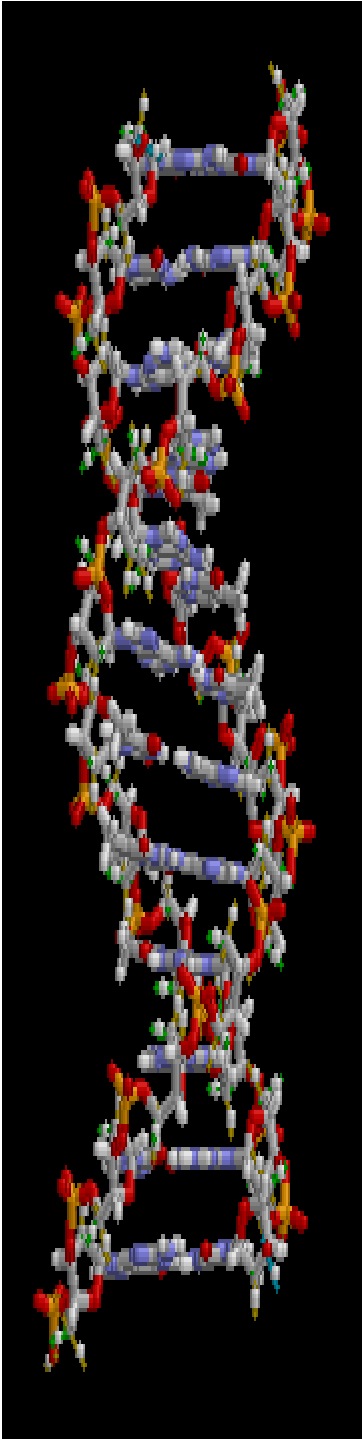
- ماصّات مختلفة الحجم (١ مل ، ٥ مل ، ١٠ مل).  
Pipettes (1ml, 5ml, 10ml).

- ماصّات بلاستيك.  
Pasteur pipettes

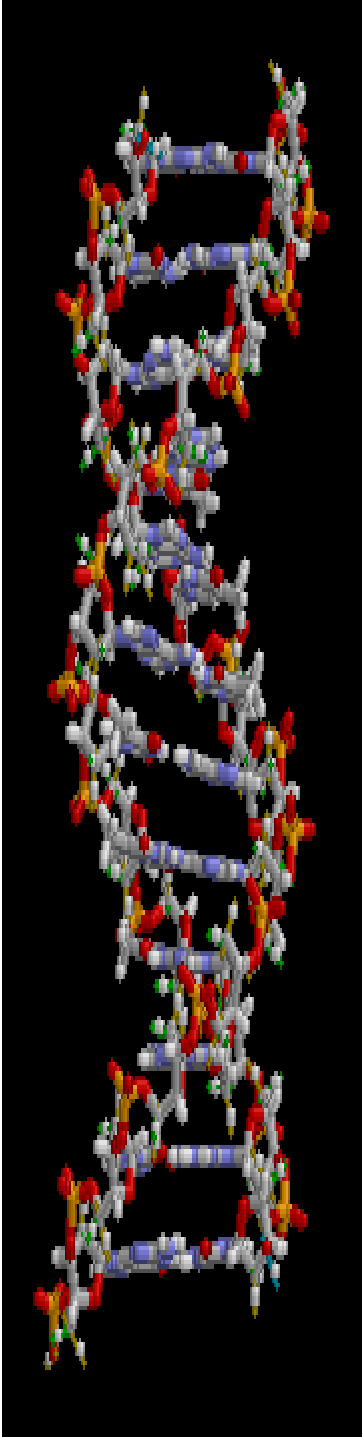
- أنابيب الإبندورف.  
Eppendorf tube.

-نهايات الماصات الألكترونية.  
Tips with different size

-حوامل للأنابيب.  
(Racks for tube)  
Quarts cuvettes.



# المواد الكيميائية المستخدمة



- محلول تكسير كريات الدم الحمراء (RBC Lysis Solution)
- محلول تكسير محتويات الخلية ( Cell Lysis Solution )
- محلول ترسيب البروتين ( Protein Precipitation Solution )
- محلول ترسيب الحمض النووي الدنا ( DNA Precipitation Solution )
- محلول تذيب الحمض النووي الدنا ( DNA Hydration Solution )

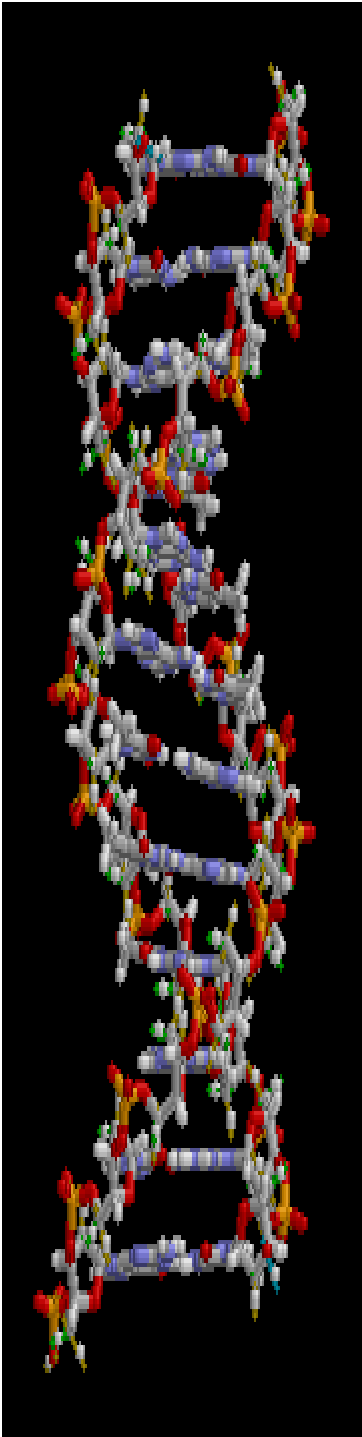
# الحسابات

$$\text{التركيز ١} \times \text{الحجم ١} = \text{التركيز ٢} \times \text{الحجم ٢}$$

$$\text{Concentration} = \frac{\text{التركيز}}{\text{الحجم}}$$

$$\text{Concentration 1} \times \text{Volume1} = \text{Concentration 2} \times \text{Volume2}$$

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$



# الحسابات

التر = ١٠٠٠ مليلتر (مل).

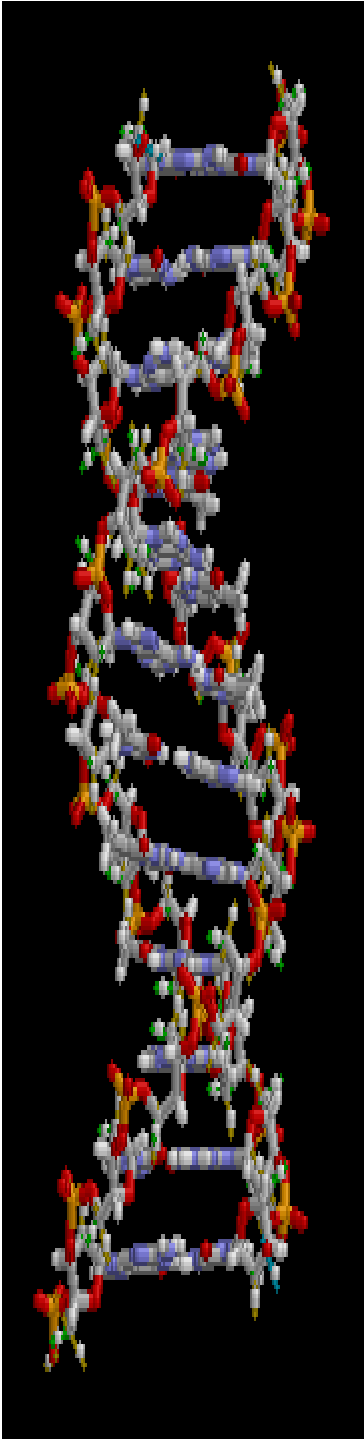
امل = ١٠٠٠ مايكروليتر.

١،٠ مل = ؟



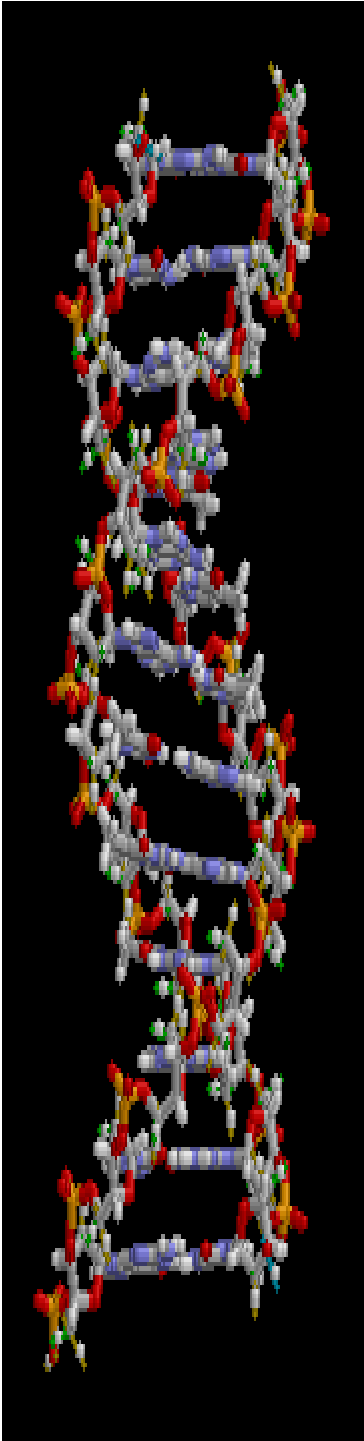
١،٠ مل = ١٠٠ مايكروليتر.

١٠٠ امل = ١٠٠٠٠ مايكروليتر.



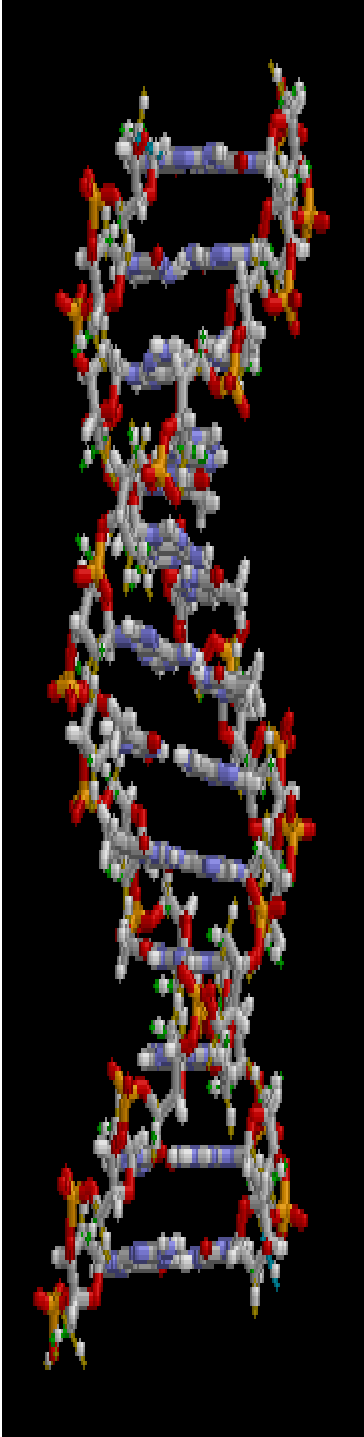
# استخلاص الحمض النووي DNA

تجميع الدم بواسطة أنابيب تجميع الدم



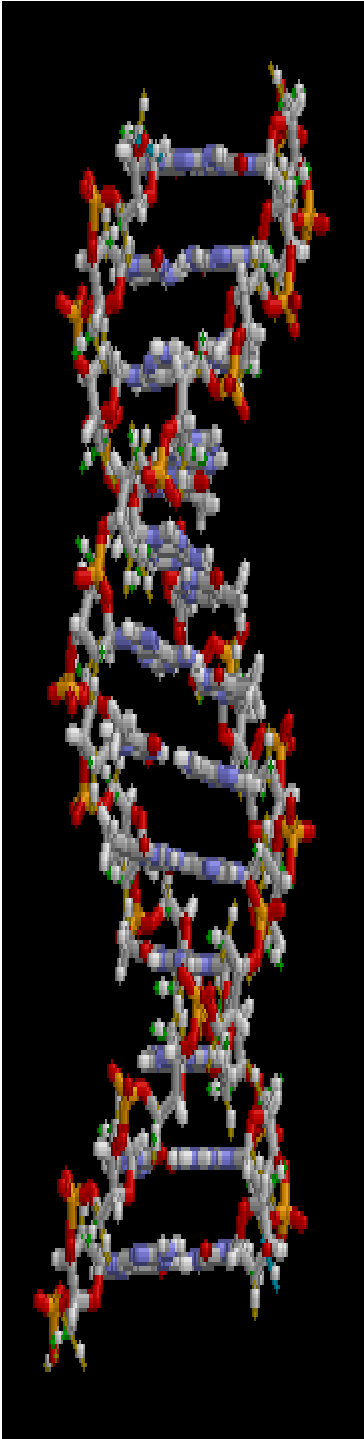
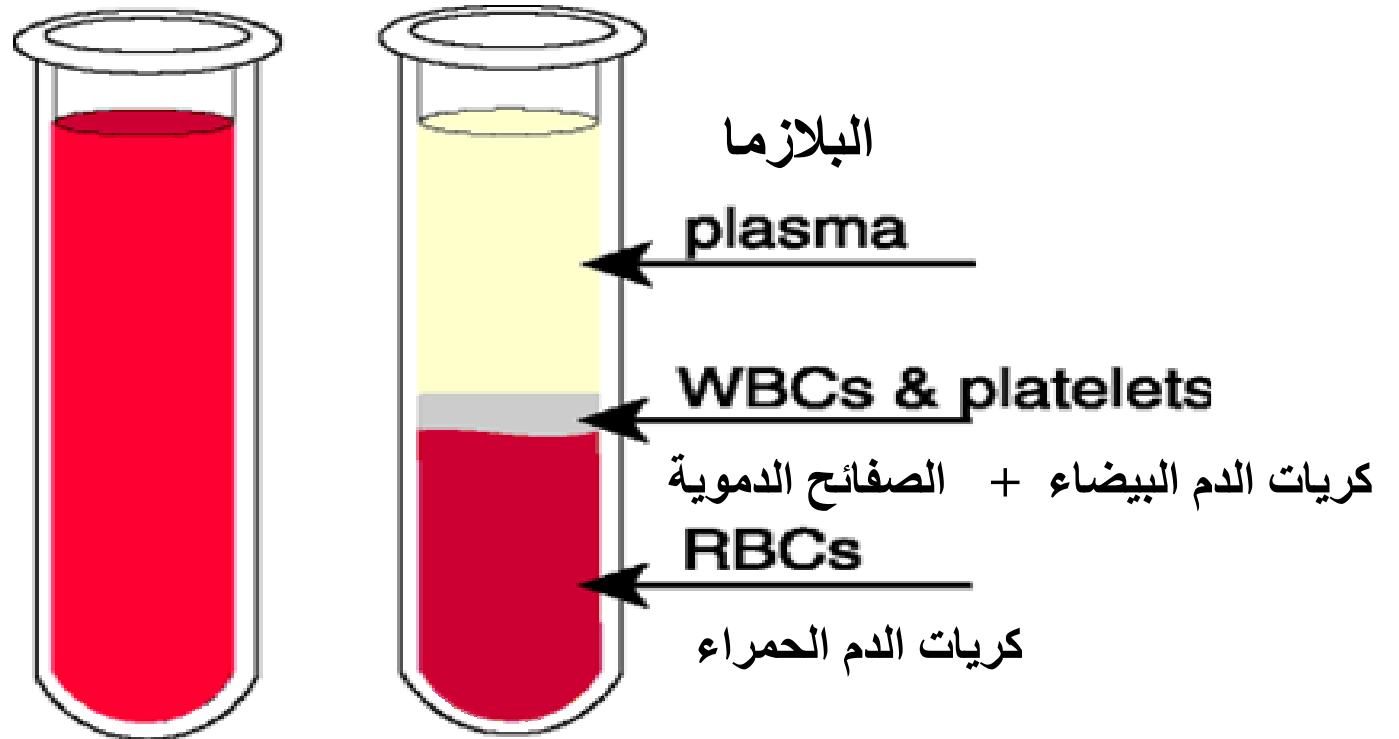
# استخلاص الحمض النووي DNA

عمل فصل لها بواسطة جهاز الطرد المركزي  
٣٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة.



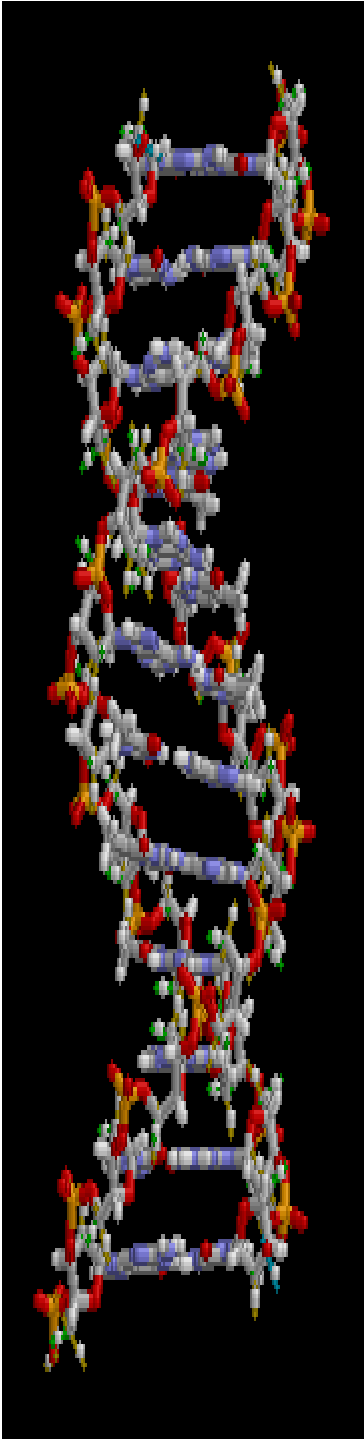
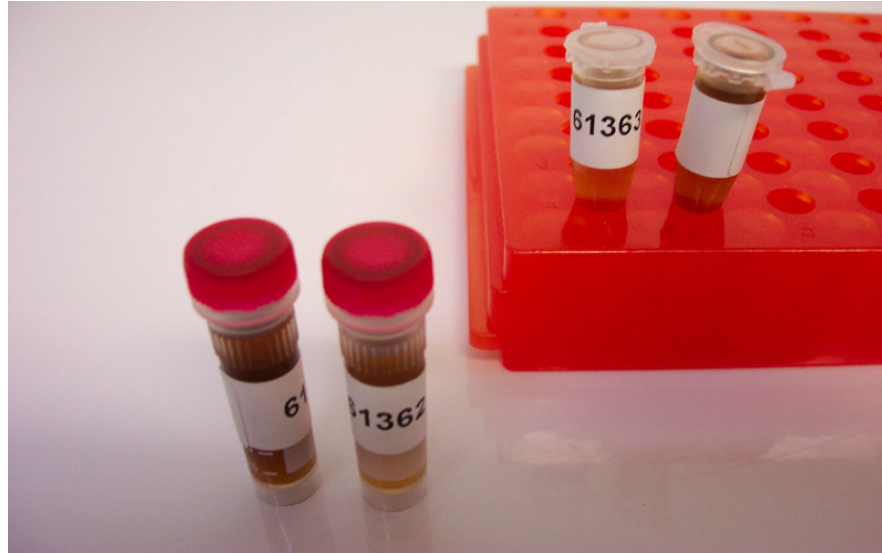
# استخلاص الحمض النووي DNA

تظهر ٣ طبقات بعد عملية الفصل



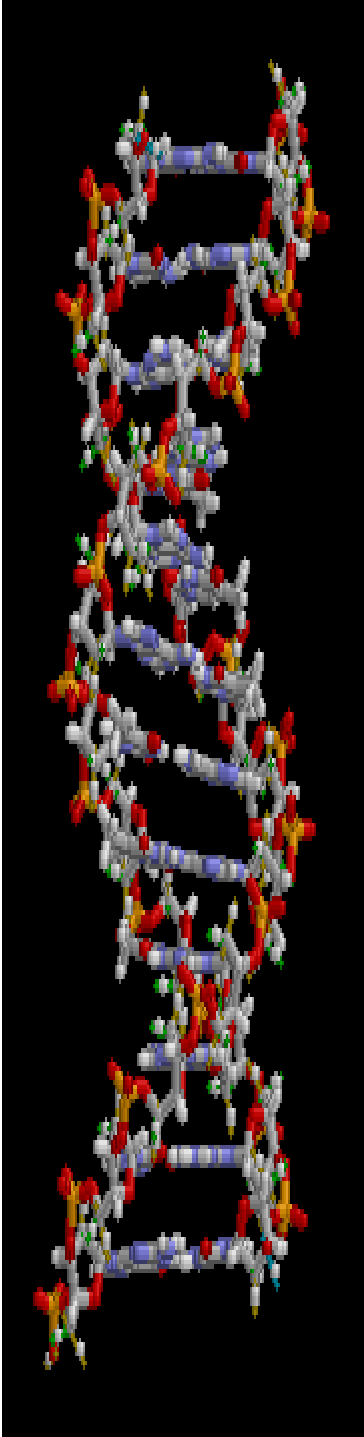
# استخلاص الحمض النووي DNA

سحب الطبقة العليا وهي البلازما  
ووضعها في أنابيب صغيرة



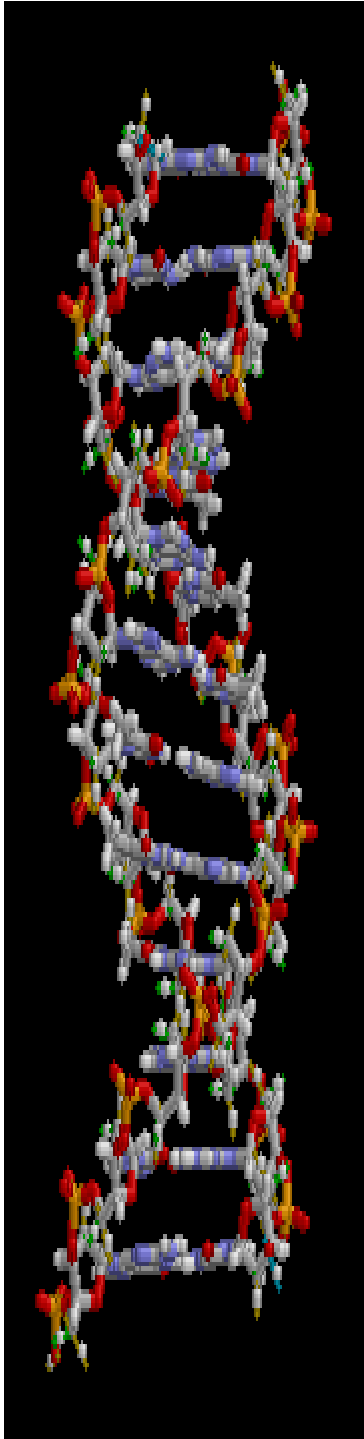
## استخلاص الحمض النووي DNA

نعمل على الطبقة الوسطى والسفلى  
وذلك بإضافة محلول تكسير كريات الدم الحمراء ( RBC )  
(Lysis Solution



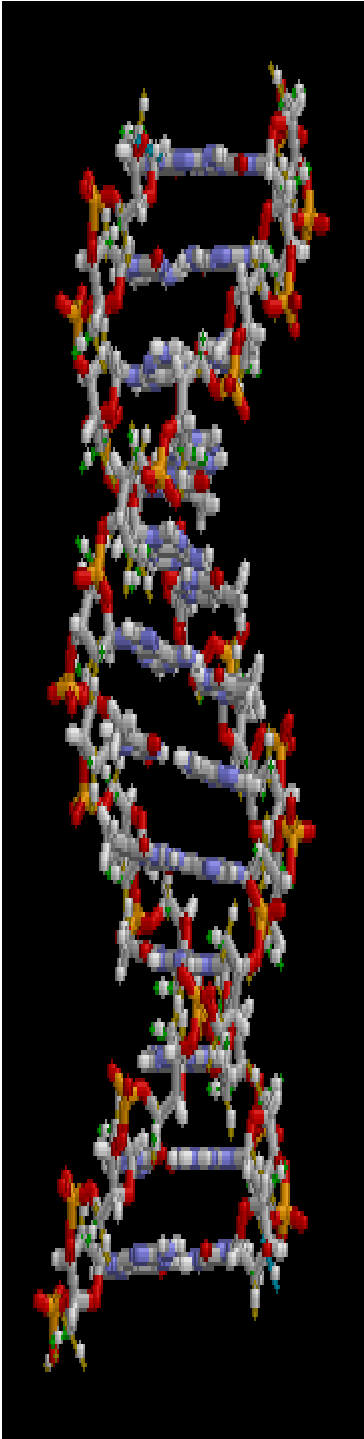
# استخلاص الحمض النووي DNA

توضع العينات على جهاز الشيكرا (الهزاز)  
لمدة ١٠ دقائق



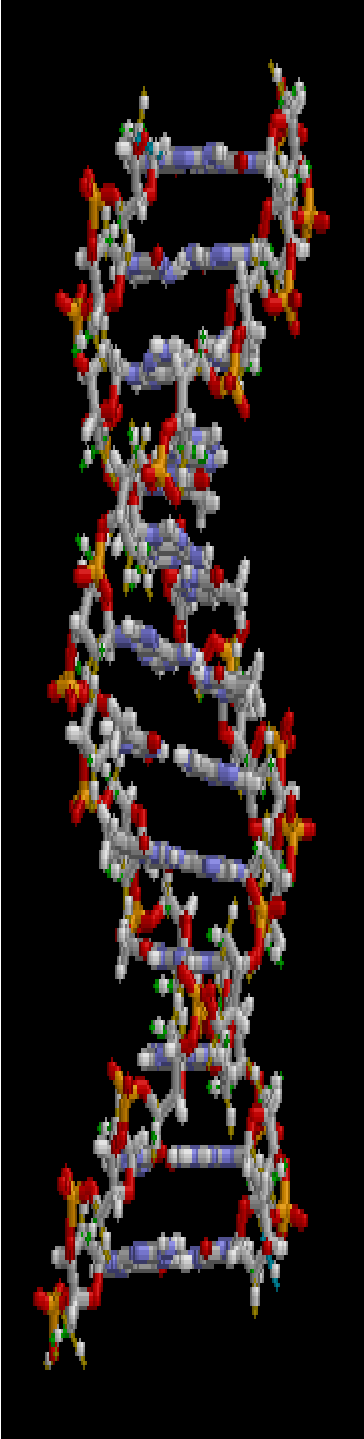
# استخلاص الحمض النووي DNA

عمل فصل بجهاز الطرد المركزي (centrifuge)  
٣٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة.



## استخلاص الحمض النووي DNA

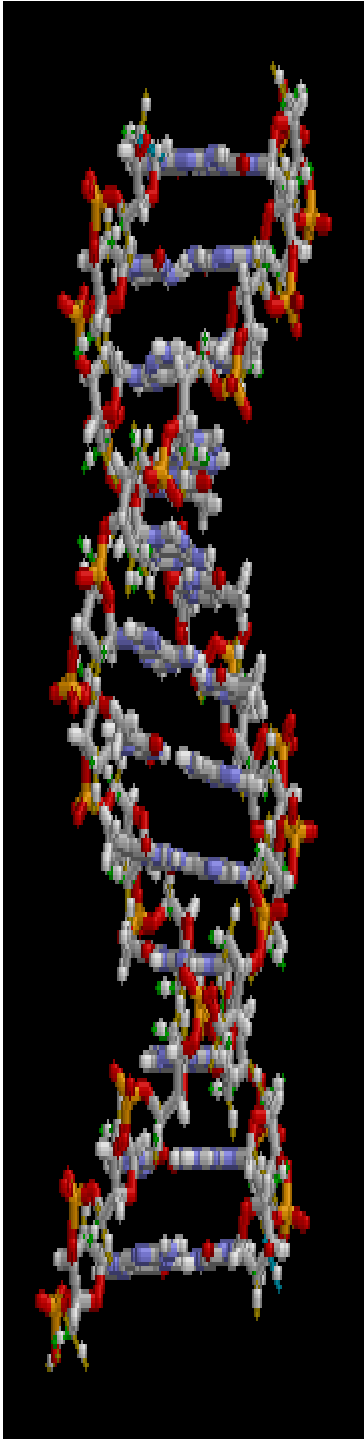
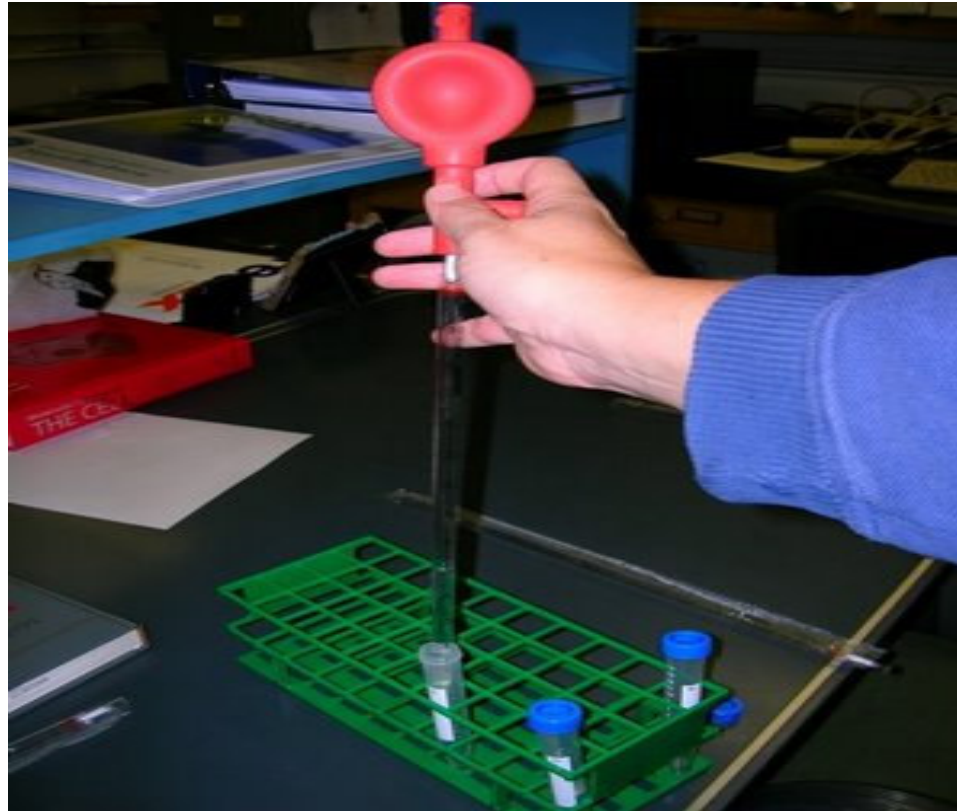
نسكب الرائق ونحتفظ بالراسب مع قليل من الرائق  
ثم نعمل لها رج (vortex) لمدة ٤٠ ثانية.



# استخلاص الحمض النووي DNA

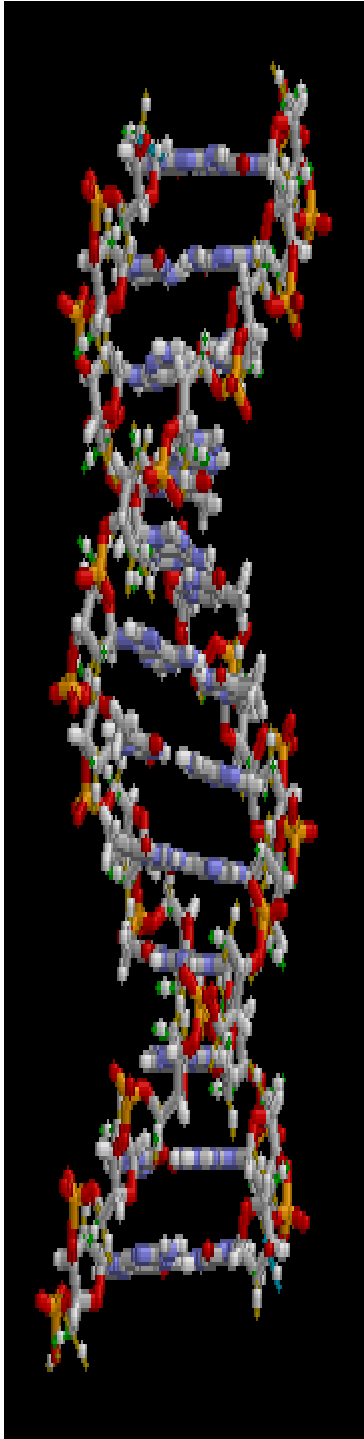
نضيف

محلول تكسير محتويات الخلية ( Cell Lysis Solution )



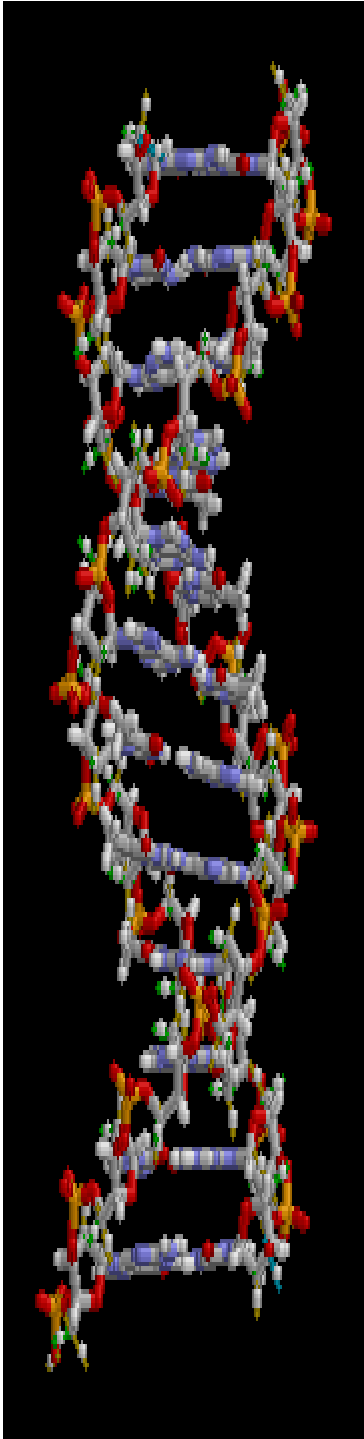
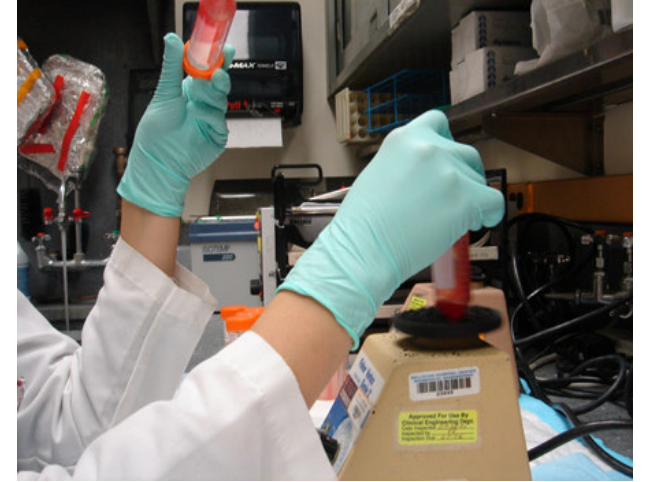
# استخلاص الحمض النووي DNA

نرجها بواسطة جهاز الرج (vortex) ثم توضع في الحمام  
المائي ذو الهزاز (shaking water bath)  
لمدة ساعة عند  $65^{\circ}\text{C}$



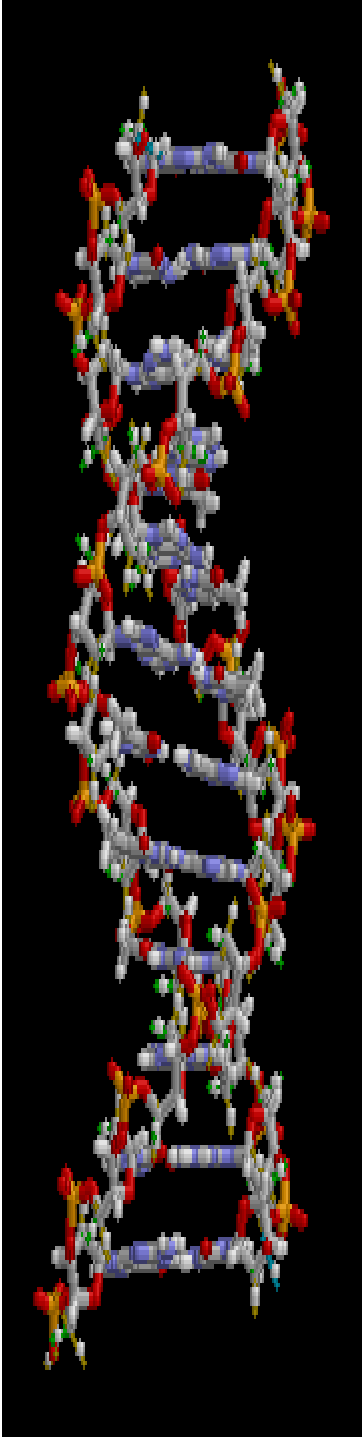
# استخلاص الحمض النووي DNA

نضيف محلول ترسيب البروتين (Protein Precipitation Solution)  
نعمل لها رج (vortex) ونتركها ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة



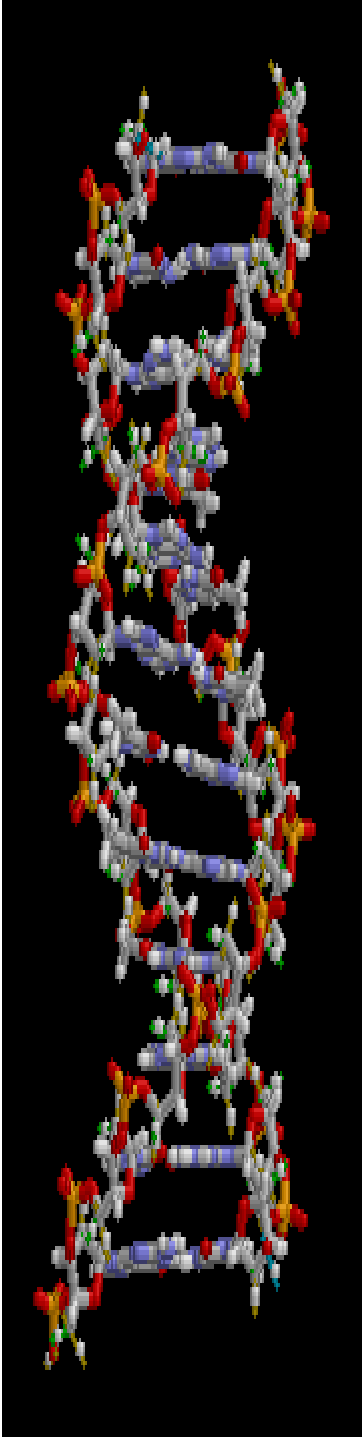
# استخلاص الحمض النووي DNA

نضع العينات في جهاز الطرد المركزي (centrifuge)  
سوف يظهر طبقتين  
نحتفظ بالرائق ونتخلص من الراسب  
وذلك بنقل الرائق لأنابيب جديدة



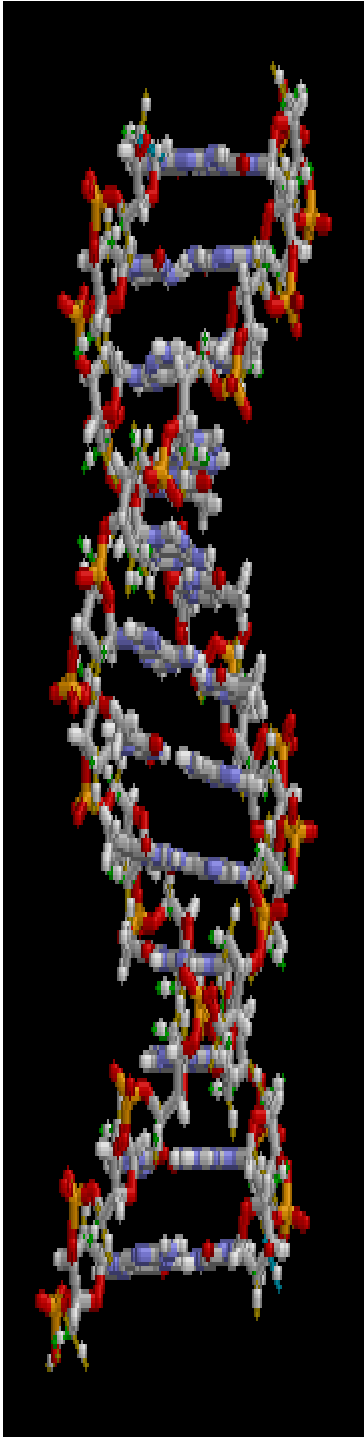
# استخلاص الحمض النووي DNA

نضيف كحول الإيزوبوبانول  
مع الرج باليد  
يظهر الدنا DNA على شكل خيوط



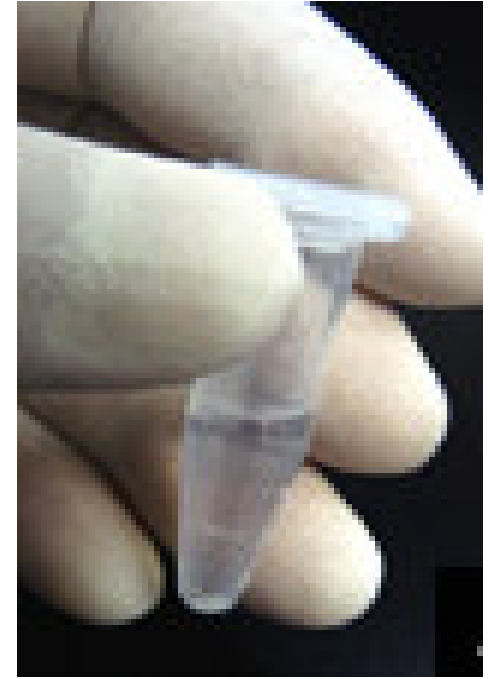
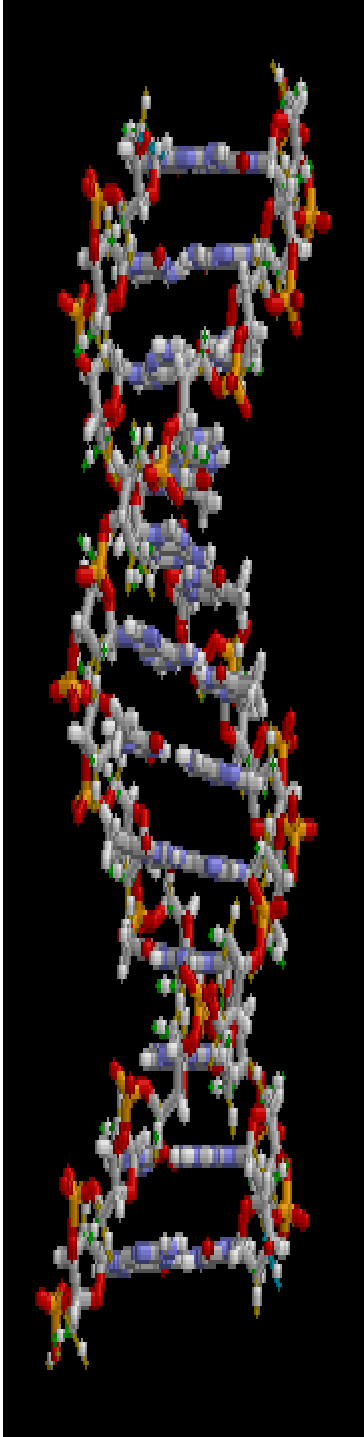
# استخلاص الحمض النووي DNA

نضع العينات في جهاز الطرد المركزي  
نحتفظ بالراسب الحمض النووي DNA  
ونضيف كحول الإيثانول ٧٠%



# استخلاص الحمض النووي DNA

نضع العينات في جهاز الطرد المركزي  
نحتفظ بالراسب الحمض النووي DNA  
ونضيف محلول تذيب الحمض النووي الدنا  
(DNA Hydration Solution )



# استخلاص الحمض النووي DNA

تترك عينة الحمض النووي الدنا DNA لمدة يوم كامل لتذوب  
ثم نقيس التركيز بجهاز الطيف المرئي (Spectrophotometer)

