

# الجزئي الحياة علم عملي الثانية المحاضرة

## الرابعة المرحلة

رجب هيثم .د العملي المادة مدرس  
م.د عزيز حسن صالح

## (Blood samples) الدم عينات سحب

5 سعة معقمة طبية سرنجة باستخدام من الدم عينات نماذج جمع يتم ذلك بعد بالكحول، تعقيمها بعد الجناحي الوريد من الدم سحب ويتم مل أمين ثنائي وهي التخر مانعة مادة على تحتوي انابيب في توضع (EDTA) بـ لها يرمز الأسيتيك حمض رباعي الإيثيلين مزج عمل مع (EthyleneDiamineTetraacetic Acid) درجة في وتحفظ الثلج بقطع مبردة بحاوية العينات نقل يتم ثم للدم 20م° - حرارة



التبريد في المبردات وسائل أشهر أحد الوسائل النتروجين بـ تحفظ او  
الوسائل النتروجين ويستخدم الكيميائية المختبرات في يستخدم ما وغالباً  
الدم مثل الحيوية للعينات بالتجميد الحفظ أجل من المثال سبيل على  
والبويضات والنطاف



## الدنا استخلاص **DeoxyriboNucleic Acid (DNA)**

وضع يتم اذ الدم عينات من DNA النووي الحامض استخلاص يتم مائي حمام في م° 20 - درجة على المجمد الدم على الحاوية الانابيب تتجانس حتى الهزاز بواسطة العينة تمزج بعدها م° 37 حرارة بدرجة عدة باستخدام الدم من DNA استخلاص خطوات تبدأ ثم ومن تماما ( DNA Purification Kit promega ) تشخيصية



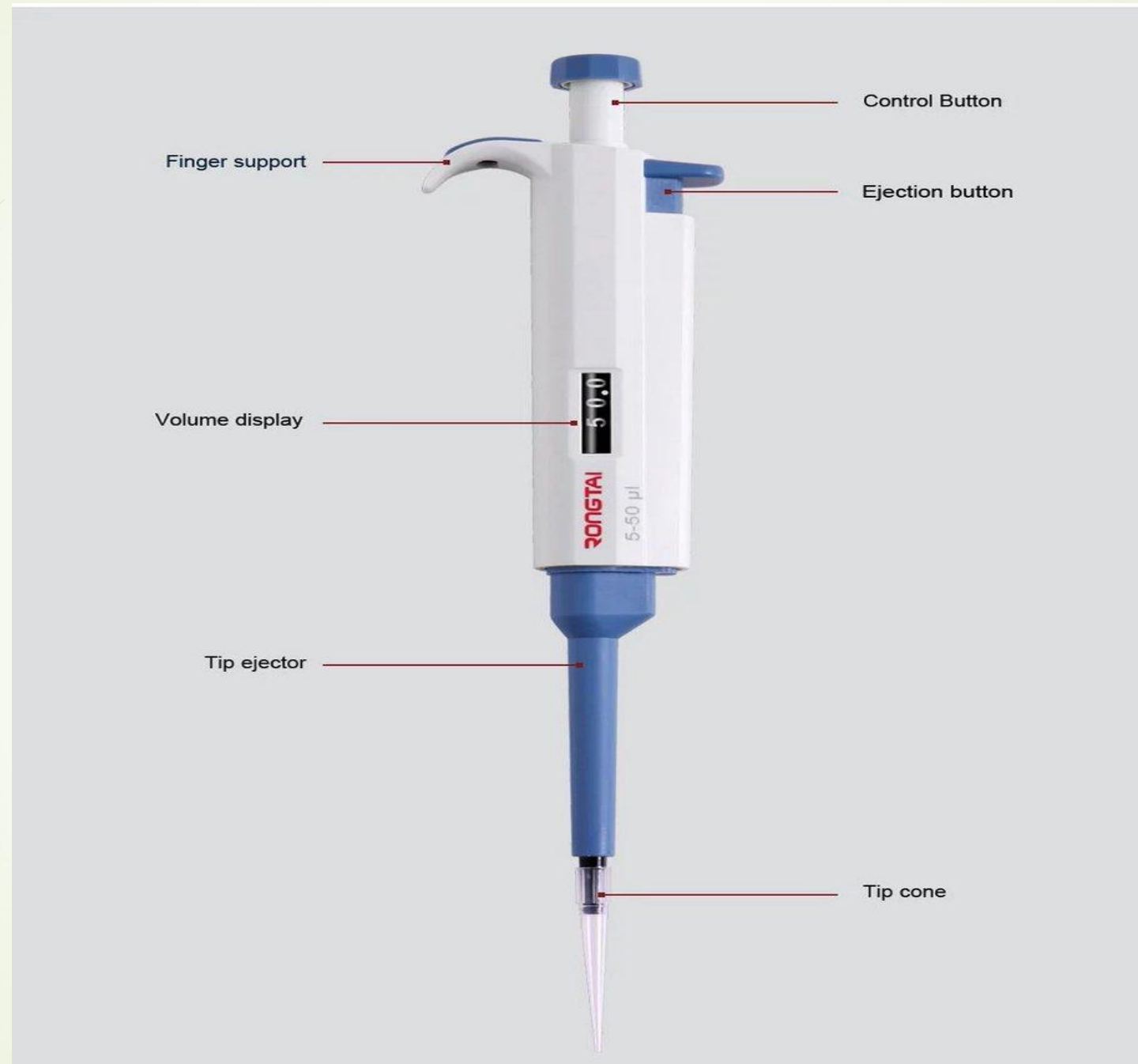
## (DNA) الدنا استخلاص خطوات

1. ماصة بواسطة الدم من مايكروليتر 300 سحب يتم  
(Tube ابندروف اختبار انبوب في وتوضع ( Micropipette )  
يتم الأحيان بعض في .مل 2 حجم ومعقمة نظيفة ( Eppendorf  
Phosphate (PBS) الملحي الفوسفات محلول مادة إضافة  
Buffered Saline











Tip 200-1000 blue

Tip 20-100 yellow

Tip 0.5-10 white

2. (Cell Lysis Solution) محلول من مايكروليتر 900 اضافة يتم  
الاختبار انبوبة الى **DNA** ماعدا الخلية محتويات تذويب وظيفته  
ومزجها الابدروف غطاء بواسطة الانبوبة وغلق الدم على الحاوية  
مرات عدة الانبوبة بقلب



**Cell lysis  
solutions**  
are used for the  
chemical disruption  
of cells.

وقلب الغرفة حرارة بدرجة دقائق 10 لمدة الابدروف حضن يتم 3.  
الدم خلايا لتحلل منه والغرض مرات ثلاث الحضن في الابدروف  
Red Blood Cell الحمراء

جهاز عن عبارة هو) المركزي الطرد جهاز في العينة وضع يتم ثم 4.  
تتجه حيث الدوران طريق عن المركزي الطرد قوى توليد فيه يتم  
واما الدوران، محور عن بعيدا الخارج إلى ثقالة الأكثر الجزيئات  
13000 سدرعة على .(وسطي مكان في فتبقى ثقالة الأقل الجزيئات  
الذوي الراسب على للحصول ثانية 20 وبفترة الدقيقة في دورة  
(Precipitate nuclease).





من بهدوء (والطافي الرائق السائل ) الدم بقايا من التخلص يتم 5.  
كمية بقاء مع (Pellet) المرئية البيضاء القطعة تبعثر دون الانبوية  
على البقاء لضمان مايكروليتر 10-20 من تقدر السائل من قليلة  
DNA. عينة

(Vortex) هزاز خلاط جهاز بواسطة الابدروف داخل العينة مزج 6.  
. طافية او معلقة البيضاء الدم خلايا لتصبح ثانية 15 لمدة



**Nuclei lysis** الذواة حل محلول من مايكروليتر 3 اضافة ثم 7.  
وعمل المعلقة الخلايا على المحتوي الابدروف الى **Solution**  
(Lysis) البيض الدم خلايا تحلل لغرض مرات ستة بالماصة المزج  
(Viscous) لزوجة حدوث ملاحظة مع (the white blood cells)  
المحلول في

تخطيط وظيفة Rnase محلول من مايكروليتر 300 اضافة ثم 8.  
5-2 الهزاز جهاز بواسطة العينة مزجت ثم RNA النووي الحمض  
على وتبرد دقيقة 15 لمدة م° 37 بدرجة العينة تحضن ثم . مرات  
الغرفة حرارة درجة





9. البروتين ترسيب محلول اضافة ثم  
وظيفته مايكروليتر 100 بمقدار الابدروف الى (solution)  
البروتين من التخلص





10. لمدة الهزاز جهاز بواسطة الابدروف داخل العينة مزج يتم ثم  
بروتينية تجمعات ظهور ملاحظ مع المزج عملية بعد ثانية 20  
وواضحة مرئية تكون أن ممكن صغيرة

11. سرعة على المركزي الطرد جهاز في الابدروف وضع يتم بعدها  
دقائق ثلاث لمدة دورة 13000

وبعد دقيقتين ماصة بواسطة الطافية أو العليا الطبقة نقل يتم ثم 12.  
300 على تحتوي مل 1.5 ساعة ومعقمة نظيفة انبوبة الى  
يعمل والذي) Isopropanol ايزوبروبانول مادة من مايكروليتر  
الدنا وترسيب Dehydration الماء سحب عملية على بدو ره

الانديوية في الطافية الطبقة سائل من قليلة كمية ابقاء: ملاحظة  
التلوث حدوث لتجنب الثانية الانديوية الى التحول قبل اي, الاصلية  
هذه وفي المترسبة البروتينات من ولاسيما DNA محلول في  
خيوط من مرئية كتل شكل على DNA ملاحظة يمكن المرحلة  
المادة على الحاوي الابدروف قلب بعد السائل في عالقة بيضاء  
. عديدة لمرات الايزوبيروبانول

13. سرعة على المركزي الطرد جهاز في الابدروف وضع يتم ثم  
DNA يظهر اللازم الوقت انتهاء وبعد دقيقتين لمدة دورة 13000  
بالعين مشاهدته ويمكن ابيض لون ذي صغير قرص شكل على  
المجردة.

منه والتخلص بهدوء (الايذوبروبانول) الطافي السائل نقل تم ثم 14.  
الايثانول مادة أضيفت و DNA لعينة تبعثر أحداث دون  
حجم الى مايكروليتر 300 وبكمية 70% بتركيز (Ethanol)  
بهدوء (invert) القلب عملية واجريت الابدروف داخل العينة  
DNA. عينة غسل هو منها والغاية للابدروف المرات من لعدد

سرعة على المركزي الطرد جهاز في الالبندروف وضع تم ثم 15.  
على DNA ملاحظة ويمكن واحدة دقيقة ولمدة دورة الف 14000  
الالبندروف اسفل صغيرة كتلة شكل

الماصة باستخدام بهدوء منه والتخلص الايثانول سائل نقل تم ثم 16.  
طليقا يكون DNA يكون المرحلة هذه وفي

وكذلك pipette بواسطة بسحبه وذلك الايثانول من التخلص 17.  
درارة درجة في تركها طريق عن تماما الكحول من التخلص  
الغرفة .

الانزيمات من الخالي الماء من مايكروليتر 100 اضافة تم 18.  
DNA ال اذابة لغرض الانايب الى ( Nuclease free water )

الاستخدام لحين م -20 درارة بدرجة بالتجميد العينات حفظ 19.

**Nuclease-free Water**  
**#B1500S**

Amt: 25 ml

Lot: 0011609

Exp: 09/18

Store at  
room temp.

For research use only

