

# الجزئي الحياة علم عملي الثانية المحاضرة

## الرابعة المرحلة

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

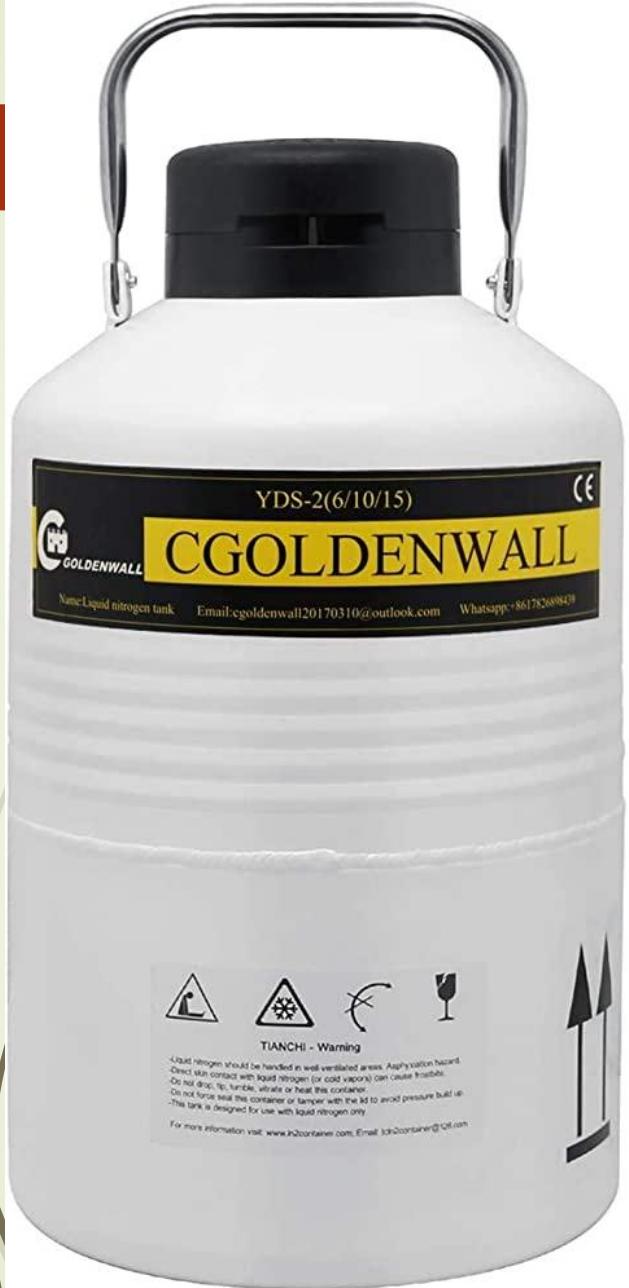
## الدم عينات سحب (Blood samples)

5 سعة معقمة طبية سرنجة باستخدام من الدم عينات نماذج جمع يتم ذلك بعد بالكحول، تعقيمها بعد الجناحي الوريد من الدم سحب ويتم بمل أمين ثنائي وهي التخثر مانعة مادة على تحتوي انبيب في توضع (EDTA) بـ لها يرمز الأسيتيك حمض رباعي الإيثيلين (EthyleneDiamineTetraacetic Acid) درجة في وتحفظ الثلج بقطع مبردة بحاوية العينات نقل يتم ثم للدم ٢٠° حرارة





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



## الدنا استخلاص

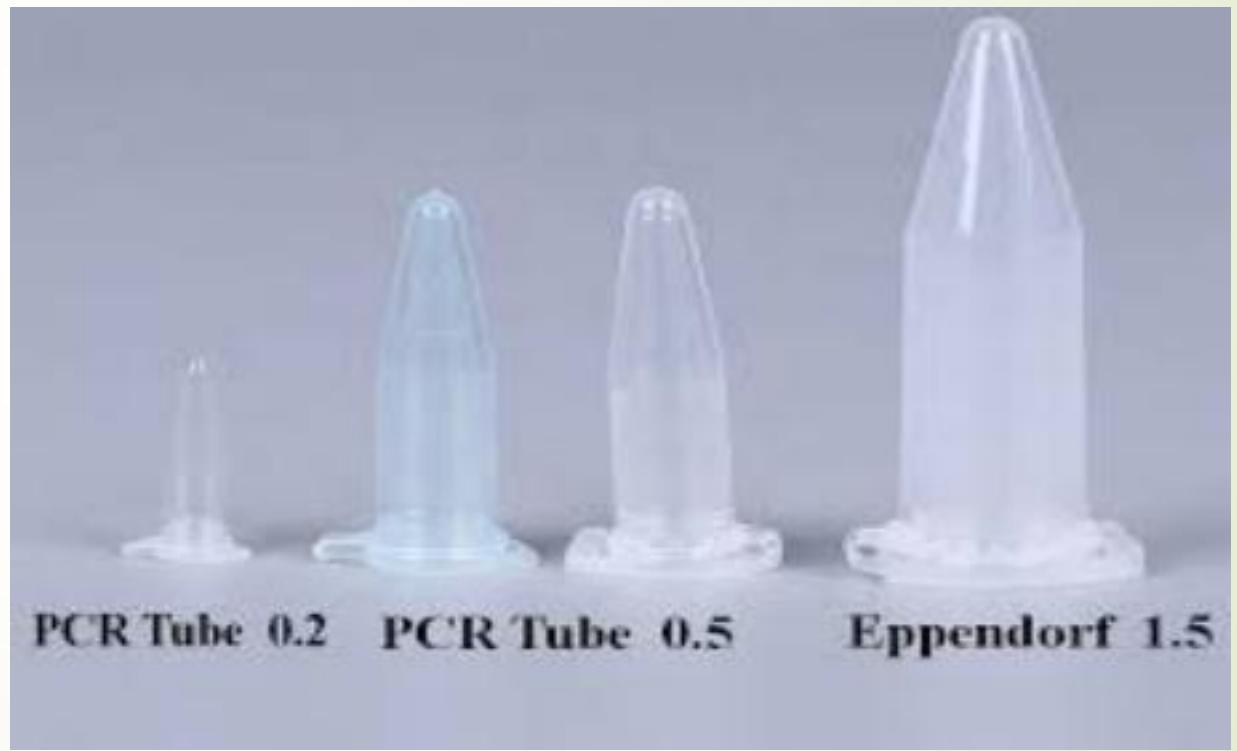
## DeoxyriboNucleic Acid (DNA)

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 درارة بدرجة عدة باستخدام الدم من DNA استخلاص خطوات تبدا ثم ومن تماما تشخيصية DNA Purification Kit promega )

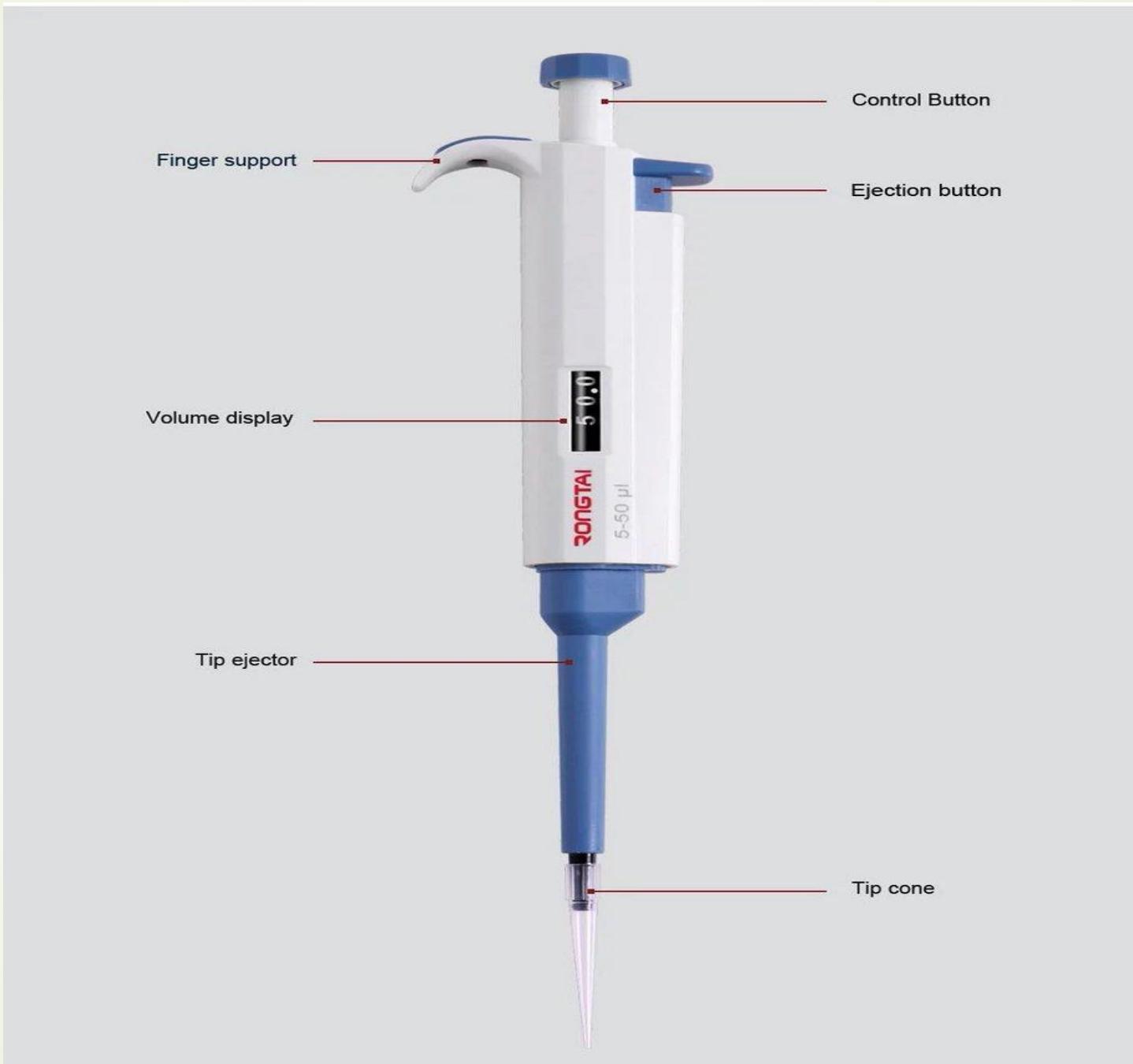


## الدنا استخلاص خطوات (DNA)

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







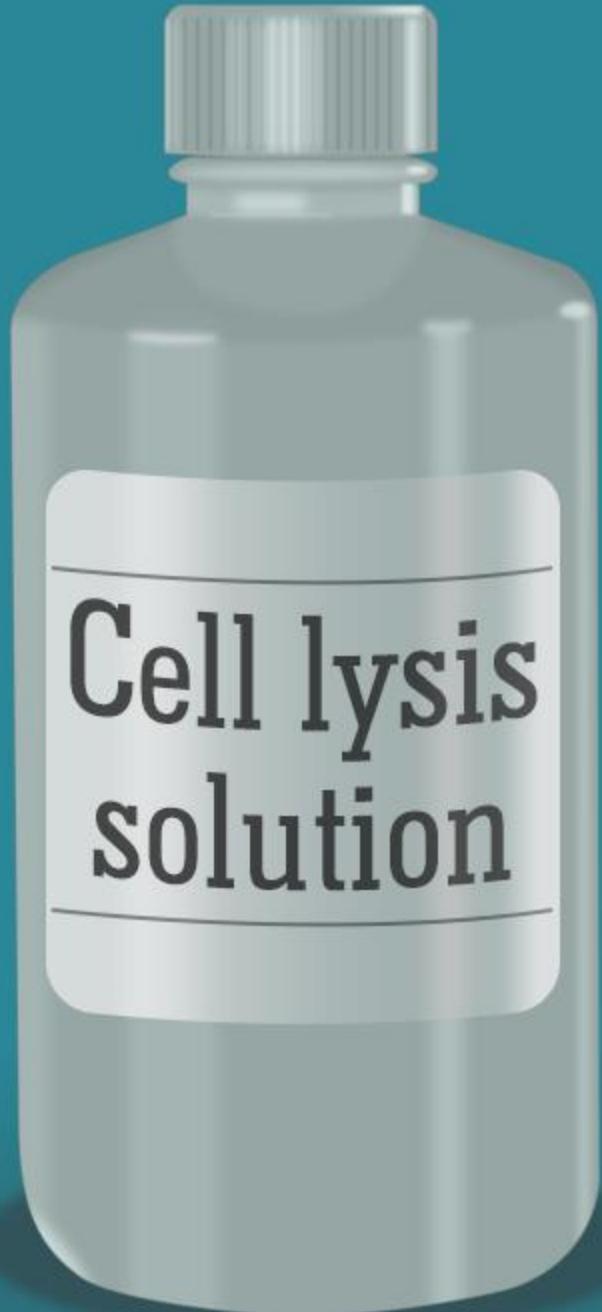


**Tip 200-1000 blue**

**Tip 20-100 yellow**

**Tip 0.5-10 white**

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



# **Cell lysis solutions**

are used for the  
chemical disruption  
of cells.

وقلب الغرفة درارة بدرجة دقايق 10 لمدة الابندروف حضن يتم .  
الدم خلايا لتحلل منه والغرض مرات ثلاث الحضن في الابندروف  
**Red Blood Cell.**

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 ثقافة الأقل الجزيئات سرعة على .(وسطي مكان في فتبقي ثقافة الأقل الجزيئات الذي ادراسب على للحصول ثانية 20 وبفترة الدقيقة في دورة (Precipitate nuclease).



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

6. (Vortix) هزار خلاط جهاز بواسطة الابندروف داخل العينة مزج. طافية او معلقة البيضاء الدم خلايا لتصبح ثانية 15 لمدة.



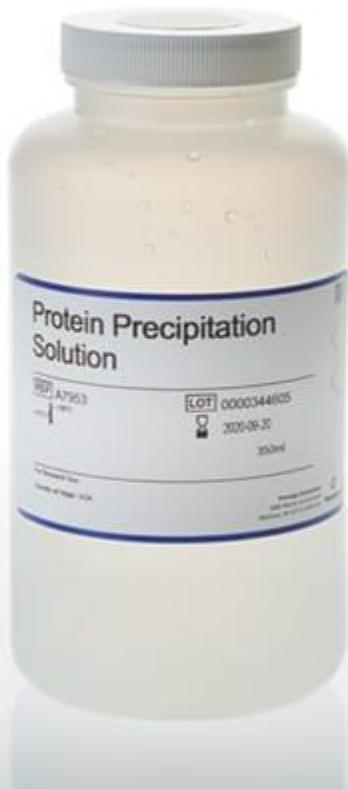
7. نزع النواة حل محلول من مايكروليتر 3 اضافة ثم Nuclei lysis وعمل المعلقة الخلايا على المحتوى الابندروف الى Solution (Lysis) البلازما الدم خلايا تحلل لغرض مرات ستة بالماصة المزج the white blood cells (Viscous) لزوجة حدوث ملاحظة مع المحلول في.

تحطيم وظيفته Rnase محلول من مايكروليتر 300 اضافة ثم 8-5 الهزاز جهاز بواسطة العينة مزجت ثم RNA النووي الحمض على وتبريد دقيقة 15 لمدة ٣٧ درجة العينة تحضر ثم . مرات الغرفة حرارة درجة.



9. البروتين ترسيب محلول اضافة ثم Protein precipitation  
solution بمقدار 100 ملليتر ميكرو ملليتر الى وظيفته

البروتين من التخلص





لمرة الهاز جهاز بواسطة الايندروف داخل العينة مزج يتم ثم 10.  
بروتينية تجمعات ظهور ملاحظ مع المزج عملية بعد ثانية 20  
وواضحة مرئية تكون أن ممكн صغيرة

سرعة على المركزي الطرد جهاز في الايندروف وضع يتم بعدها 11.  
دقائق ثلات لمدة دورة 13000.

ويهد وء دقيقة ماصة بـواسطة الطافية أو العلبا الطبقة نقل يتم ثم 12. 300 على تحدوي مل 1.5 سعة ومعقمة نظيفة اندوبية الى يعمل والذى) Isoproanol ايزوبروبانول مادة من مايكروليتر الدنا وترسيب Dehydration الماء سحب عملية على بدوره.



الانبوبية في الطافية الطبقية سائل من قليلة كمية ابقاء: ملاحظة التلوث حدوث لتجنب الثانية الانبوبية 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 الابندروف قلب بعد السائل في عالقة بيضاء . عديدة لم رات الايزويروبيانول



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

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

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

الماصة باستخدام بهدوء منه والتخلص الايثانول سائل نقل تم ثم 16.  
طريقا 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.  
 الـ اذابة لغرض الانابيب الى ( Nuclease free water ) DNA.

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

**Nuclease-free Water  
#B1500S**

Amt: 25 ml

Store at

Lot: 0011609

room temp.

Exp: 09/18

For research use only

