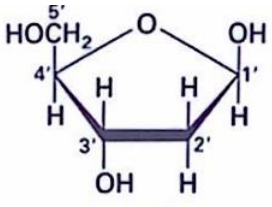
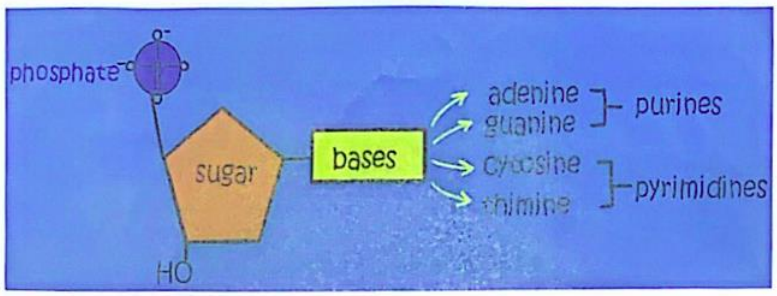
الجامعة	جامعة الانبار
الكلية	التربية للبنات
القسم	علوم الحياة
المرحلة	الرابعة
اسم المادة باللغة العربية	البايولوجي الجزيئي
اسم المادة باللغة الانكليزية	Molecular biology
اسم التدريسي	م.م. نبأ قيس جميل
عنوان المحاضرة باللغة العربية	استخلاص -1- DNA
عنوان المحاضرة باللغة الإنكليزية	DNA Extraction -1-
رقم المحاضرة	1
المصادر او المراجع	Bergtrom,Gerald.Basic Cell and Molecular Microbiology and Molecular Biology Reviews

استخلاص الحمض النووي DNA Extraction

الحمض النووي هو حامل المعلومات الوراثية في جميع الخلايا الحية. تشارك جزيئات DNA في تركيب الكروموسومات داخل نواة الخلية، وتتحكم في تصنيع البروتينات وضبط نشاط الخلية من خلال الجينات . .يمتاز الحمض النووي بشكله الحلزوني المزدوج واحتوائه على أربعة قواعدنيتروجينية (ادنين- ثايمين – كوانين – يوراسيل)، وهو موجود في جميع الكائنات الحية تتيح معرفة بنية DNA وفهم قواعده إمكانية تفسير الصفات الوراثية وتحديد أسباب الأمراض الجينية وتطوير تقنيات بيولوجية وحيوية عديدة.



2-Deoxyribose



أهمية استخلاص الحمض النووي

يُعدّ استخلاص الحمض النووي خطوةً تأسيسية في أبحاث الأحياء الحديثة. ففي مجال التقنية الحيوية والوراثية، يحتل هذا الإجراء مكانًا مركزيًا لأنه يوفر المادة الوراثية النقية اللازمة للتحليل فالحصول على عيّنة نقية وعالية الجودة من DNA يمثل نقطة الانطلاق للعديد من الاكتشافات العلمية والتطبيقات التقنية على سبيل المثال، من خلال استخراج DNA من خلايا بشرية أو نباتية يمكن تحليل التسلسل الوراثي ورسم خريطة الجينوم للكائنات وتستخدم عينات الـ DNAالمُستخلصة في تشخيص الأمراض الوراثية ودراسة البنية الجينية للبكتيريا والفيروسات، وحتى في التعديلات الوراثية للنباتات والحيوانات لغرض تحسين المحاصيل أو إنتاج لقاحات جديدة يساهم استخراج الـ DNAعالي النقاء أيضًا في إجراء التحليلات المتسلسلة) مثل تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR والتسلسل الوراثي (والتعرف على العوامل الوراثية المسؤولة عن الأمراض، مما يجعله أساسًا لا غنى عنه في المختبرات البحثية والسريرية.

خطوات استخلاص الحمض النووي

تشمل خطوات استخلاص الحمض النووي مراحل متسلسلة تهدف إلى تحرير DNA من الخلايا وتنقيته. يمكن تلخيصها فيما يلي:

1. تحلل الخلايا :(Cell Lysis) تُكسر خلايا العينة (نباتية أو حيوانية) ميكانيكيًا أو كيميائيًا لتحرير محتوياتها. عادةً توضع الخلايا في محلول ملحي مع منظف أو إنزيم يحلل الغشاء الخلوي والسيتوبلازمي. فعلى سبيل المثال، يُضاف إلى العينة محلول يحتوي على صابون) مثل SDS أو صابون غسيل المواعين (وملح (NaCl) يؤدي المنظف إلى تحلل الدهون في أغشية الخلايا، ويفصل ذلك الحمض النووي ضمن السائل.

2. فصل البروتينات والمواد الخلوية :بعد تحلل الخلايا، يُضاف إنزيم البروتييز (Protease) لتفكيك البروتينات المرتبطة بالحمض النووي. كما يمكن إضافة إنزيم RNase لهضم الحمض النووي الريبوزي.

يساعد ذلك على إزالة الشوائب البروتينية والمركبات الخلوية الأخرى .ثم تُستخدم طرق فيزيائية (مثل الطرد المركزي أو الترشيح) لفصل الحطام الخلوي وتثبيته بعيدًا عن محلول.DNA

3. ترسيب الحمض النووي :(DNA Precipitation) يُضاف كحول بارد (إيثانول أو أيزوبروبانول) ببطء إلى محلول العينة بعد تشبعه بالملح. تكون جزيئات الـ DNAغير ذائبة في محلول مالح ممزوج بالكحول، فيترسب الحمض النووي على شكل خيوط بيضاء أو راسب واضحيمكن جمع هذا الراسب بواسطة عصا زجاجية أو دورق صغير.

4. تنقية الحمض النووي :يجمع الراسب المترسب للـ DNAويُغسل بالكحول البارد لتنقية إضافية من الشوائب المتبقية. ثم يُذاب الحمض النووي الناتج في محلول عازل) مثل محلول (Tris-EDTA أو ماء مقطر لجعله جاهزًا للاستخدام في التحليلات التاليةبعد هذه العملية، يُصبح الـ DNAالنقي مؤهلاً للتخزين أو لإجراء تقنيات مخبرية أخرى مثل PCR والتسلسل الوراثي.