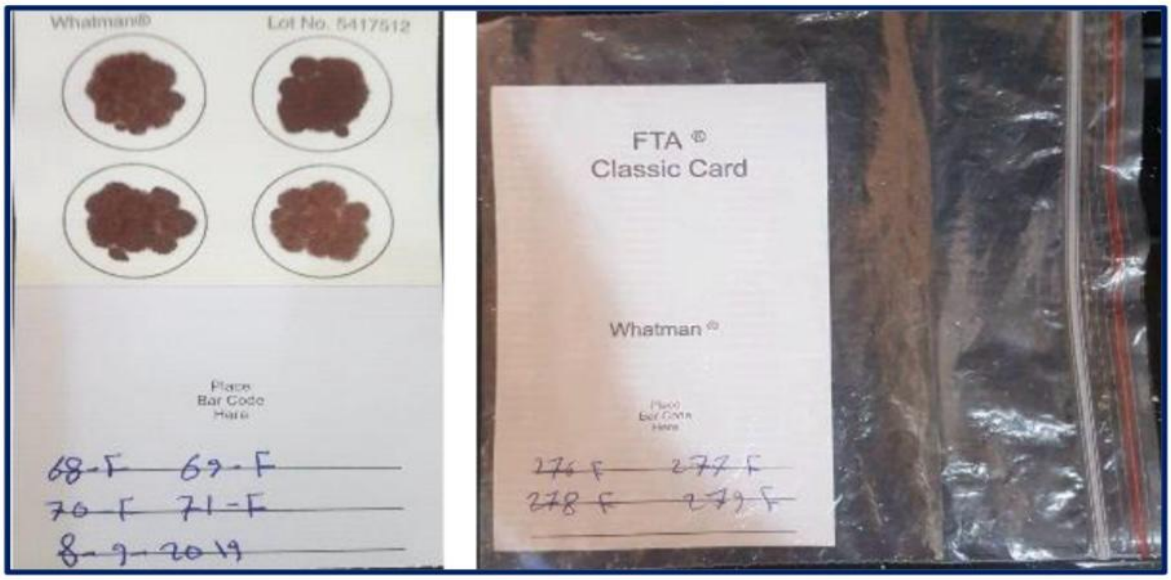
الجامعة	**الانبار**
الكلية	**التربية للبنات**
القسم	**علوم الحياة**
المرحلة	**الرابعة**
اسم المادة باللغة العربية	**البايولوجي الجزيئي**
اسم المادة باللغة الانكليزية	**Molecular biology**
اسم التدريسي	**م.م. نبأ قيس جميل**
عنوان المحاضرة باللغة العربية	**استخلاص الدنا من عينات الدم المخزونة على بطاقات FTA cards**
عنوان المحاضرة باللغة الإنكليزية	**Extraction DNA from blood samples stored on cards FTA**
رقم المحاضرة	**6**
المصادر او المراجع	**Bergtrom,Gerald.Basic Cell and Molecular Microbiology and Molecular Biology Reviews**

استخلاص الدنا من عينات الدم المخزونة على بطاقات FTA cards

بطاقات ال FTA® هي احدى التقنيات المستخدمة بكثرة في مختبرات وابحاث الادلة الجنائية بالاضافة لابحاث البايولوجيا الجزيئية بشكل عام، اذ تعتبر طريقة سهلة لجمع وحفظ الحامض النووي من مصادر مختلفة. يمكن تخزين العينات على بطاقات FTA® في مكان مظلم و جاف في درجة حرارة الغرفة. تحتوي بطاقات البطاقات FTA على مزيج من المواد الكيميائية ، مثل المنظفات والعوامل المخلبية، اذ ان محلول المنظفات يعمل على حل غشاء الخلية ومسخ البروتينات. بينما يعمل EDTA كعامل مخلّبي لتثبيط الانزيمات الحالة DNAJ وبذلك يمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة.

لهدف من التجربة: عزل الدنا من الدم المحفوظ على بطاقات FTA

جمع وتخزين عينات الدم: يتم جمع عينات الدم في أنابيب EDTA ثم بأستخدام المايكرو بابيت يتم اضافة 100 مايكروليتر من الدم على كل حقل دائري ضمن بطاقات Whatman FTA cards ومن ثم تجفيفها لمدة 24 ساعة في درجة حرارة ، ثم حفظها في اكياس منفصلة بسحاب نظيف لحين استخدامها مع العلم انه يمكن حفظ العينات بهذه الطريقة لمدة سنوات في اماكن جافة ومظلمة .



الشكل يوضح توزيع الدم على بطاقات الـ **FTA** ومن ثم حفظها داخل اكياس منفصلة ذات سحاب.

طريقة العمل :

1. لعزل الدنا يتم تقطيع البطاقات إلى قطع صغيرة باستخدام مقص او قطعة واحدة بمساحة 1.5 مل وتغسل بواسطة نقلها إلى أنابيب سعة 1.5 مل والتي يضاف لها 0.5 مل لتر ماء المقطر (حقل دائري واحد يوضع في كل انبوبة سعة 1.5 مل) تنقل بعدها الى جهاز الهزار او تقاب الانابيب باليد في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق.ثم يتم التخلص من الماء المقطر ، ويكرر هذا الإجراء مرتين الى ثلاث مرات.
2. نضيف 0.5 مل من محلول TE (10 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 8.0) و 10 L من محلول بروتينيز k بتركيز 20 mg/mL في حال توفره.
3. تمزج جيدا بواسطة جهاز الرجاج vortex لمدة 15 ثانية .
4. يضاف حجم مماثل من محلول الحال لكريات الدم الحمر (محضر سابقا في تجربة استخلاص الدنا من الدم) ثم توضع الانابيب في الحاضنة لمدة 20 دقائق على درجة حرارة 60 م . يفضل اخراج الانابيب لمرة واحدة بعد 5 دقائق وعمل رج لها لمدة 15 ثانية بجهاز الرجاج ثم اعادتها للحاضنة لاكمال الفترة المطلوبة.
5. تترك الانابيب لتكتسب درجة حرارة الغرفة ثم تطرد مركزيا بسرعة 13000 دورة لمدة دقيقتين

وبعدها تنقل الطبقة لعليا الى انابيب جديدة.

6.نضيف 5.2 uL of 3 M sodium acetate, pH 50 الى المحلول ثم يضاف 800 AL من الايثانول المطلق وتمزج المكونات بالتقليب لمدة دقيقتين ثم توضع الانابيب بالتجميد لمدة لاتقل عن ساعة ونصف.

7. ثم اخيرا تطرد مركزيا لمدة 5 دقيقة وبسرعة 12 الف دورة في الدقيقة لترسيب الدنا.

8. تسكب الطبقة العليا ويضاف 50 AL من الماء المقطر او محلول TE buffer ويترك ليذوب ويحفظ باتجميد لحين استخدامه لاحقا.