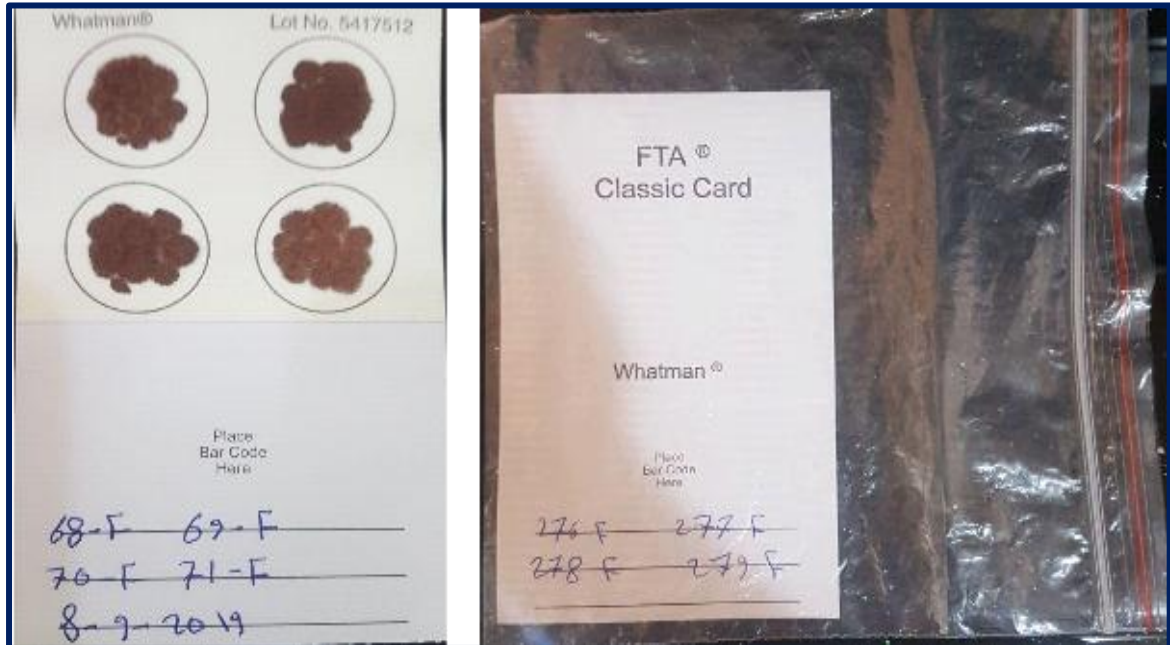


## المختبر الثامن: عزل الدنا من عينات الدم المخزونة على بطاقات FTA cards

بطاقات الـ FTA® هي احدى التقنيات المستخدمة بكثرة في مختبرات وابحاث الادلة الجنائية بالاضافة لابعاث البايلوجيا 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 المخليبية، اذ ان محلول المنظفات يعمل على حل غشاء الخلية ومسح البروتينات. بينما يعمل EDTA كعامل مخلبي لتثبيط الانزيمات الحالة للـ DNA وبذلك يمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة.

الهدف 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 أكياس 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 انبوية سعة 1.5 مل) تنقل بعدها الى جهاز الهزاز او تقلب 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 (8.0 TE (10 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 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 العليا الى انابيب جديدة.
6. نضيف 50 pH of 3 M sodium acetate, 5.2  $\mu$ L الى المحلول ثم يضاف 800  $\mu$ L 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  $\mu$ L من الماء المقطر او محلول TE buffer ويترك ليذوب ويحفظ بالتجميد لحين استخدامه لاحقاً.