

**المختبر الخامس: عزل الحمض النووي من الدم DNA extraction from Blood**

\* تمثل هذه الطريقة الطريقة المتبعة لاستخلاص الـ DNA من الدم باستخدام العدة المجهزة من قبل شركة GENE AID

**الخطوة الاولى : تحضير العينة والتحليل Preperation of sample and lysis**

- 1- مزج العينة جيدا قبل البدء بالاستخلاص .
- 2- ينقل 200  $\mu$ l من عينة الدم الى انابيب ايندورف Eppendorf tubes حجم 1.5 مل .
- 3- اضافة 20  $\mu$ l من انزيم Proteinase K ومراعاة المزج جيدا بالماصة الدقيقة Micropipettes .
- 4- اضافة 300  $\mu$ l من محلول Lysis buffer-2
- 5- تحضن الانابيب في الحمام المائي Water bath بدرجة 60° م لمدة 20 دقيقة من التقليب المستمر ( كل 5 دقائق )

**الخطوة الثانية : ربط الدنا DNA Binding**

- 1- اضافة 200  $\mu$ l من الايثانول المطلق الى العينة وتمزج بواسطة جهاز الرجاج Vortex لمدة 10 ثواني
- 2- نقل 800  $\mu$ l من الخليط الى انابيب Colum بعد وضعها في انابيب جمع ذات حجم 2 مل ثم توضع في جهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة وبسرعة 10000 دورة 1 دقيقة
- 3- تستبدل بأنابيب جديدة وتعاد عليها عملية الطرد المركزي مرة اخرى وبالوقت نفسه .

**الخطوة الثالثة : غسل الدنا**

- 1- اضافة 500  $\mu$ l من محلول الغسل الاول 1- wash buffer ثم توضع بجهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة وبسرعة 11000 دورة 1 دقيقة ثم التخلص من الراشح .
- 2- اضافة 500  $\mu$ l من محلول الغسل الثاني 2- wash buffer ثم توضع بجهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة وبسرعة 13000 دورة 1 دقيقة ثم التخلص من الراشح .

3- تعاد الانابيب الى جهاز الطرد المركزي بالسرعة نفسها لمدة 3 دقائق ( لغرض تجفيف العينة )  
والتخلص من بقايا الايثانول

### الخطوة الرابعة : انزال الدنا DNA Elution

- 1- نقل انابيب Column الى انابيب ابندورف جديدة .
- 2- اضافة 150  $\mu$ l من محلول الدارء Elution buffer الى انابيب Column الحاوية على الدنا المستخلص ويترك لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة .
- 3- اجراء الطرد المركزي بسرعة 11000 دورة \ دقيقة لمدة 2 دقيقة ثم التخلص من انابيب Column والاحتفاظ بـ DNA المستخلص بدرجة حرارة -20 م لحين الاستعمال .



انابيب column المستعملة في هذه التجربة