University of Isfahan

Faculty of Biological Science and Technology

Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology

Farzaneh Forouharfar

# آنالیز DNA ژنومی
# (Analysis of Genomic DNA)

Farzaneh Forouharfar

# اهداف آزمایش:

- ✓ آنالیز DNA ژنومی خون
- ✓ آنالیز DNA ژنومی گیاهی
- ✓ مقایسه DNA ژنومی و DNA پلاسمیدی آنالیز شده در جلسه چهارم بر روی ژل آگارز
- ✓ اندازه گیري طول قطعات DNA پلاسمیدی

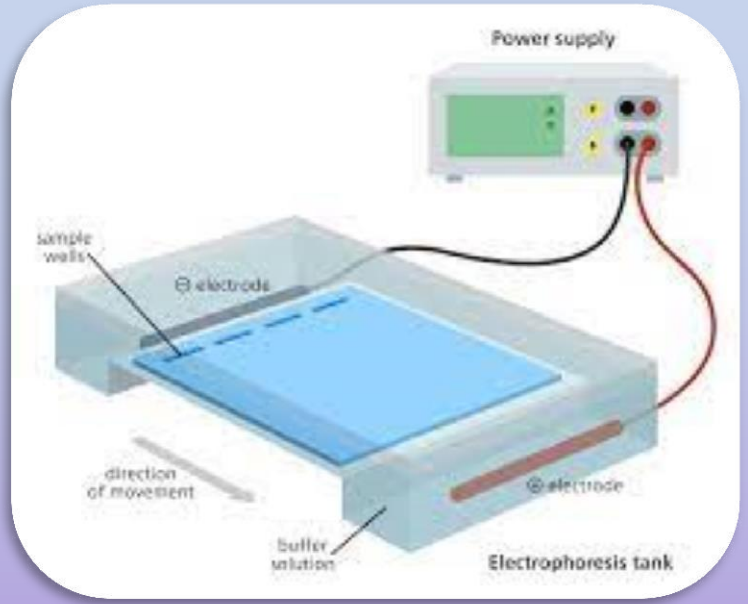
# مقدمه

پس از استخراج DNA ژنومی از خون و حل کردن آن در بافر TE در جلسه قبل، DNA آماده تفکیك بر روی ژل آگارز می‌باشد. در این جلسه علاوه بر آنالیز DNA ژنومی، DNA پلاسمیدی را هم آنالیز خواهید کرد و یك مقایسه کلی بین این دو DNA انجام خواهید داد. همچنین روش اندازه گیری تقریبی طول DNA پلاسمیدی در مقایسه با DNA استاندارد بررسی خواهد شد.

## مواد و محلول‌های مورد نیاز:

- DNA ژنومي (خون)
- DNA پلاسمیدی
- بافر TBE
- بافر لودینگ
- اتیدیوم برماید
- آب مقطر
- DNA استاندارد

Farzaneh Forouharfar




## وسائل مورد نیاز:

- دستگاه الکتروفورز و منابع تغذیه
- ترانس لومیناتور (جعبه اولتراویوله)
- لول‌های اپندرف استریل
- سمپلر و سرسمپلر (سمپلر متغیر و سمپلر ۱۰)

Farzaneh Forouharfar

## روش کار:

۱- دستگاه الکتروفورز را مطابق با آنچه در جلسه چهارم انجام دادید آماده کنید.

۲- ژل آگارز را با غلظت ۰/۸ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر بافر TBEتهیه و روی شعله بطور کامل ذوب کنید.

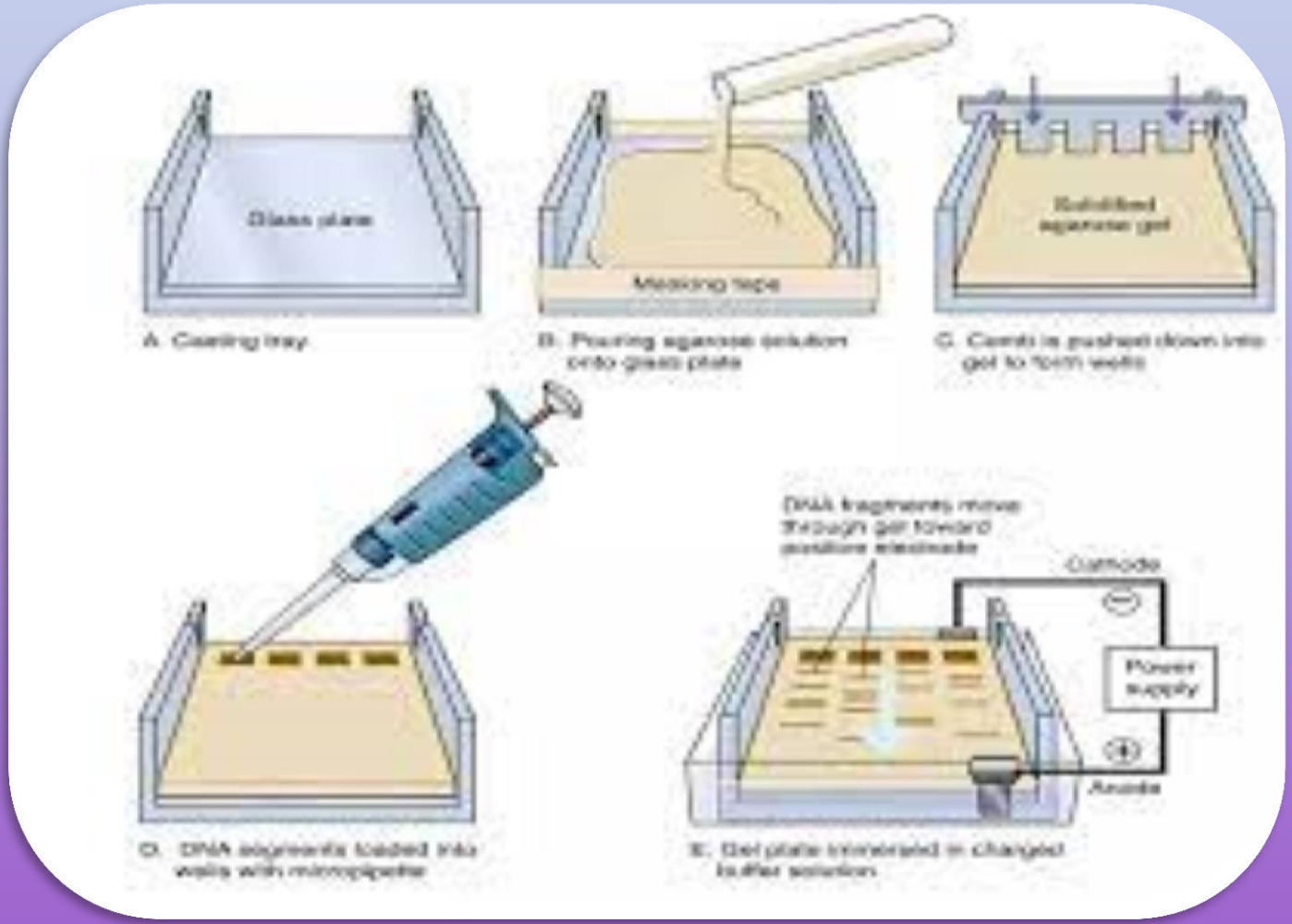
۳- محلول ژل را در محیط آزمایشگاه سرد کنید و در حالیکه ولرم است ۱۰ میکرولیتر از محلول اتیدیوم بروماید به هر ۱۰۰ میلی لیتر محلول ژل اضافه کنید.

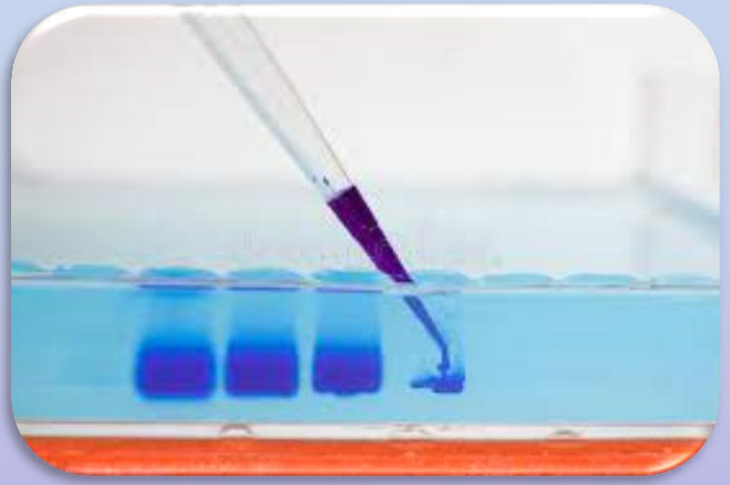
٤- ژل را به داخل سینی ژل ریخته و بلافاصله شانه مناسب از لحاظ تعداد و حجم چاهک‌های مورد نیاز در داخل سینی قرار دهید.

۵- سینی را در محیط آزمایشگاه برروی یک سطح تراز تا منعقد شدن ژل قرار دهید.

۶- سینی را به داخل تانک الکتروفورز حاوی بافر TBE منتقل نمائید و به آرامی شانه را خارج کنید.

۷- ۱۰ میکرولیتر از DNA ژنومی خون را به داخل یک اپندرف استریل منتقل کرده و ۱۰ میکرولیتر از DNA ژنومي گیاهي را به اپندرف استریل دیگر وارد کنید. به آن‌ها یک میکرولیتر بافر لودینگ اضافه نمائید. محتوای لوله‌ها را مخلوط و به میکروپیپت (سمپلر) به دو چاهك جداگانه لود نمائید.


Glass plate
Masking tape
Cathode
Power supply
Anode



۸- ۱۰ میکرولیتر از محلول DNA پلاسمیدی استخراج شده در جلسه سوم را نیز به روش فوق در داخل چاهک دیگر لود کنید.

۹- یکی از چاهک‌ها را نیز اختصاص به DNA استاندارد بدهید و پس از اضافه کردن بافر لودینگ به ۱۰ میکرولیتر آن، به روش فوق لود کنید.

۱۰- الکتروفورز را به منبع تغذیه متصل نموده و در ولتاژ ۹۰-۱۱۰ تنظیم نمائید.

۱۱- پس از رسیدن رنگ آبی بروموفنل موجود در بافر لودینگ به $\frac{۲}{۳}$ ژل جریان الکتریکی را قطع و ژل را بر روی جعبه UV مورد مطالعه قرار دهید.

۱۲- نتایج خود را تفسیر کنید.

Farzaneh Forouharfar

## سؤالات:

۱- براساس مشاهدات خود برروی ژل مقایسه ای بین DNA ژنومی و DNA پلاسمیدی به عمل آورید.

۲- چرا DNA ژنومی را به این حالت مشاهده می کنید؟

۳- در چه صورت می توان جداسازی (تفکیک) بهتری بر روی ژل انجام داد؟

4- DNA پلاسمیدی عموماً به چه صورت دیده می‌شود؟ تفسیر نمائید.

Farzaneh Forouharfar