

بسم الله الرحمن الرحيم

نام استاد: خانم دکتر شریف زاده

نام دانشجو: لیلا عبدالهی _ سونیا تاجیک

تایم کلاس: پنجشنبه / 9:00_7:30

گزارش کار آزمایشگاه ژنتیک مولکولی

تاریخ آزمایش: 1404/1/21

تئوری

محلول سازی فرآیند تهیه محلول ها از ترکیب یک یا چند ماده حل شونده (مانند جامدات، مایعات یا گازها) با یک حلال (معمولاً مایع) است. در این فرآیند، ماده حل شونده در حلال حل می شود و یک مخلوط یکنواخت به نام محلول تشکیل می دهد.

|| اجزای اصلی محلول:

1. ماده حل شونده:

- ماده ای که در محلول حل می شود. این ماده می تواند یک جامد، مایع یا گاز باشد. به عنوان مثال، نمک (NaCl) یا شکر (ساکارز) می تواند به عنوان ماده حل شونده استفاده شود.

2. حلال:

- ماده ای که ماده حل شونده در آن حل می شود. حلال معمولاً آب است، اما می تواند حلال های دیگری مانند الکل، استون و غیره نیز باشد

به طور کلی، محلول سازی یک فرآیند اساسی در بسیاری از زمینه ها است و درک آن برای علوم طبیعی، مهندسی و صنایع مختلف بسیار مهم است.

غلظت وزنی (Weight Concentration) به نسبت وزن یک ماده حل شده به وزن کل محلول گفته می شود. این مقدار معمولاً به

صورت درصد بیان می شود.

محلول EDTA

یک ترکیب شیمیایی (اسید اتیلن دی آمین تترا استیک) EDTA در شیمی و (chelator) است که به عنوان یک عامل کلاتور بیوشیمی استفاده می شود. این ماده می تواند با یون های فلزی مانند کلسیم، منیزیم و آهن تشکیل کمپلکس دهد و به همین دلیل در بسیاری از کاربردها از جمله تجزیه و تحلیل شیمیایی، درمان مسمومیت با فلزات سنگین، و در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار

کاربردهای EDTA

- در پزشکی: برای درمان مسمومیت با فلزات سنگین مانند سرب و جیوه.
- در صنایع غذایی: به عنوان نگهدارنده و برای جلوگیری از اکسیداسیون.
- در آزمایشگاه ها: برای تجزیه و تحلیل شیمیایی و به عنوان کلاتور در واکنش ها.
- در کشاورزی: برای تأمین عناصر ریز مغذی در کودها.
- محلول TAE (Tris-acetate-EDTA) یکی از محلول های پرکاربرد در علم زیست شناسی مولکولی است که عمدتاً برای جداسازی و تحلیل DNA و RNA استفاده می شود. این محلول به دلیل ویژگی های خاص خود، به عنوان بافر در الکتروفورز ژل و دیگر تکنیک های آزمایشگاهی به کار می رود

کاربردها

- الکتروفورز DNA و RNA
- تحلیل ژنتیکی

مواد و وسایل مورد نیاز:

ترازو دیجیتال / بشر 100 و 250 میلی لیتری / شیشه ساعت / کاغذ صافی / آب مقطر / هیتر / قاشقک
مواد لازم:

اسید استیک گلاسیل میلی لیتر 1.142 EDTA 7.44g
سدیم هیدروکسید 0.8g NaOH / آب مقطر Tris 4.84g
مراحل آزمایش:

1. به میزان EDTA 7.44g با استفاده از ترازو دیجیتال وزن میکنیم سپس در بشر 100mm میریزیم
2. چهل میلی لیتر آب مقطر داخل بشر میریزیم
3. ابتدا 0.8g NaOH وزن میکنیم داخل بشر میریزیم (این امر باعث می شود EDTA بهتر حل شود)
4. محلول را بر روی هیتر می گذاریم و تا زمانی که محلول شفاف شود آن را بهم میزنیم
5. در نهایت محلول را در ظرف مناسب میریزیم و درب آن را می بندیم بر روی ظرف EDTA No2 می نویسیم

تهیه محلول TAE

مواد و تجهیزات

1. مواد اولیه:

- تریس (Tris)
- استات سدیم

• EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)

• آب مقطر

2. تجهیزات:

- بالن یا بشر برای مخلوط کردن
- پیپت و سرنگ برای اندازه‌گیری دقیق
- ترازوی دیجیتالی

روش تهیه محلول TAE

1. محاسبه مقادیر:

برای تهیه 1 لیتر محلول 1X TAE، مقادیر زیر نیاز است:

- 40 میلی‌مول تریس (Tris)
- 20 میلی‌مول استات سدیم
- 1 میلی‌مول EDTA (0.5 M)

2. تهیه محلول:

- مقدار 4.84g از تریس را در بشر 250 میلی لیتری وزن میکنیم
- سپس 1.142 استات سدیم را به وسیله سمپلر را به آن اضافه کنید و به خوبی هم بزنید تا کاملاً حل شود.
- در نهایت، به مقدار 2ml EDTA از محصول آزمایش قبل اضافه

میکنیم

به آرامی ترکیب را بهم میزنیم تا یکنواخت شود.
محلول را در ظرف مناسب ریخته و نامگذاری میکنیم

نتیجه‌گیری

محلول TAE یکی از ابزارهای کلیدی در آزمایشگاه‌های بیولوژی مولکولی است که با فراهم کردن شرایط مناسب برای جداسازی و تحلیل اسیدهای نوکلئیک، نقش مهمی در تحقیقات علمی ایفا می‌کند.

* به دلیل کمبود مواد در آزمایشگاه از ارقام دیگری استفاده کردیم

عنوان تحقیق: الکتروفورز_تکنیک ژل الکتروفورز_انواع الکتروفورز_انواع ژل های الکتروفورز و کاربرد های آن

الکتروفورز یک تکنیک آزمایشگاهی است که برای جداسازی مولکول ها (مانند DNA، RNA و پروتئین ها) بر اساس اندازه و بار الکتریکی آن ها استفاده می شود. انواع مختلفی از الکتروفورز وجود دارد که به تفکیک نوع مولکول و شرایط آزمایش بستگی دارد. در زیر به برخی از انواع رایج الکتروفورز اشاره می شود:

1. الکتروفورز ژل آگارز
 2. الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید (PAGE)
 3. الکتروفورز دو بعدی (2D-PAGE)
 4. الکتروفورز در محیط مایع
 5. الکتروفورز در شرایط غیر طبیعی (native PAGE)
 6. الکتروفورز تحت شرایط دناتوره سازی (SDS-PAGE)
- هر کدام از این تکنیک ها کاربردهای خاص خود را دارند و بسته به نیاز تحقیقاتی، انتخاب می شوند.

ژل الکتروفورز

ژل الکتروفورز یک تکنیک آزمایشگاهی است که برای جداسازی و تحلیل مولکول های زیستی مانند DNA، RNA و پروتئین ها استفاده می شود. این روش بر اساس حرکت مولکول ها در یک میدان الکتریکی و به کمک یک محیط ژل (معمولاً آگارز یا پلی آکریل آمید) عمل می کند.

|مراحل انجام ژل الکتروفورز

1. تهیه ژل:

- ژل از مواد خاصی مانند آگارز یا پلی آکریل آمید تهیه می شود.
 - غلظت ژل بسته به اندازه مولکول هایی که قرار است جداسازی شوند، انتخاب می شود.
 - پودر آگارز یا پلی آکریل آمید با بافر مناسب مخلوط و حرارت داده می شود تا حل شود. سپس محلول به آرامی در قالبی ریخته می شود و اجازه داده می شود تا خنک و سفت شود. در الکتروفورز، انواع مختلفی از ژل ها وجود دارند که هر کدام برای جداسازی نوع خاصی از مولکول ها طراحی شده اند. در زیر به برخی از انواع رایج ژل های الکتروفورز اشاره می شود
- ### 2. بارگذاری نمونه:

- پس از سفت شدن ژل، چاله هایی در آن ایجاد می شود که نمونه ها (مانند DNA، RNA یا پروتئین ها) در آن ها بارگذاری می شوند.
 - معمولاً از رنگ های خاصی برای مشاهده بهتر نمونه ها استفاده می شود.
- ### 3. اعمال میدان الکتریکی:
- ژل در یک دستگاه الکتروفورز قرار می گیرد و یک میدان الکتریکی به آن اعمال می شود. مولکول ها به سمت قطب مثبت حرکت می کنند (زیرا DNA و RNA بار منفی دارند).
 - سرعت حرکت مولکول ها به اندازه و بار آن ها بستگی دارد.
 - مولکول های کوچک تر سریع تر از مولکول های بزرگ تر حرکت می کنند.
- ### 4. مشاهده نتایج:
- پس از اتمام الکتروفورز، ژل خارج شده و با استفاده از

روش‌های خاصی (مانند رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید برای DNA) مشاهده می‌شود.

- باندهای جدا شده بر روی ژل قابل مشاهده هستند و می‌توانند بر اساس اندازه و شدت آن‌ها تحلیل شوند.

انواع ژل الکتروفورز

1. ژل آگارز (Agarose Gel)

- کاربرد: عمدتاً برای جداسازی DNA و RNA

2. ژل پلی‌آکریل‌آمید (Polyacrylamide Gel)

- کاربرد: بیشتر برای جداسازی پروتئین‌ها و همچنین DNA و RNA با اندازه‌های کوچک‌تر استفاده می‌شود.

3. ژل دی‌آکریل‌آمید (Discontinuous Polyacrylamide Gel)

- کاربرد: مشابه ژل پلی‌آکریل‌آمید، اما با یک سیستم دو فازي که شامل یک ژل انباشته

4. ژل زانتان گام (Xanthan Gum Gel)

- کاربرد: در برخی موارد خاص برای جداسازی مولکول‌های بزرگ

5. ژل کاراگینان (Carrageenan Gel)

- کاربرد: عمدتاً در جداسازی پروتئین‌ها

6. ژل آکریل‌آمید با اضافه کردن مواد خاص (Modified Polyacrylamide Gel)

- کاربرد: در شرایط خاص یا برای جداسازی مولکول‌های خاص

انتخاب نوع ژل

انتخاب نوع ژل بستگی به نوع مولکول‌هایی دارد که قرار است جداسازی شوند، اندازه آن‌ها و نیازهای خاص آزمایش. هر نوع ژل دارای مزایا و معایب خاص خود است که باید در نظر گرفته شود.

تفاوت TAE و TBE

TAB (Tris-Acetate-EDTA) و TBE (Tris-Borate-EDTA)

دو نوع بافر هستند که در الکتروفورز ژل برای جداسازی مولکول‌های بیولوژیکی مانند DNA و RNA استفاده می‌شوند. هر یک از این بافرها دارای ویژگی‌ها و کاربردهای خاص خود هستند. در زیر به تفاوت‌های اصلی بین TAB و TBE اشاره می‌شود:

1. ترکیب شیمیایی:

• TAB:

• شامل سه ترکیب اصلی است:

• **EDTA** (استات) • **Acetate** • **Tris**

• TBE:

• شامل سه ترکیب اصلی است:

• Tris

• **Borate** (بورات)

• EDTA

2. pH:

• TAB:

• معمولاً دارای pH حدود 8.0 است.

• TBE:

• نیز دارای pH مشابهی است، اما به دلیل وجود بورات، ممکن است در برخی شرایط pH را کمی تغییر دهد.

3. قدرت بافر:

• TAB:

• قدرت بافر کمتری نسبت به TBE دارد، به همین دلیل ممکن است در طول زمان کمتر پایدار باشد.

• برای pH دارای قدرت بافر بالاتری است و می‌تواند • **TBE:**

مدت طولانی‌تری حفظ کند.

4. کاربرد:

• TAB:

• معمولاً برای جداسازی DNA با اندازه‌های بزرگ‌تر مناسب‌تر است و در برخی پروتکل‌های خاص استفاده می‌شود.

• TAE:

• بیشتر برای جداسازی DNA و RNA با اندازه‌های کوچک‌تر و همچنین برای الکتروفورز SDS-PAGE استفاده می‌شود.

5. تأثیر بر روی مولکول‌ها:

• TAB:

• به دلیل وجود استات، ممکن است تأثیر کمتری بر روی بار الکتریکی مولکول‌ها داشته باشد.

• TBE:

• وجود بورات ممکن است بر روی بار الکتریکی و حرکت مولکول‌ها تأثیر بیشتری داشته باشد.

6. تأثیر بر روی الکتروفورز:

• TAB:

• می‌تواند زمان الکتروفورز را افزایش دهد.

• TBE:

• معمولاً زمان الکتروفورز کوتاه‌تری دارد و می‌تواند تفکیک بهتری ارائه دهد.

نتیجه‌گیری

انتخاب بین TAB و TBE بستگی به نوع مولکول‌هایی دارد که قرار است جداسازی شوند و شرایط خاص آزمایش. هر دو بافر دارای مزایا و معایب خاص خود هستند و باید بر اساس نیازهای

خاص انتخاب شوند.



