

تقدير الاحماض النووية Nucleic acid quantitation

تعد تقدير الحامض النووي في العينة عملية مهمة لتحديد مقدار تركيز الـ DNA و RNA في العينة ودرجة نقاوته حيث تعتمد على هذه العملية الكثير من الفحوصات والتفاعلات الخاصة بالـ DNA مثل جهاز PCR واجهزة وراثية اخرى .

هناك العديد من الطرق المستعملة لقياس DNA في العينة منها:

١. جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer

٢. جهاز Nanodrop



جهاز Nanodrop

يعتبر قياس الحامض النووي (DNA او RNA) في هذا الجهاز عملية سهلة وسريعة اضافة الى انها تكشف لنا عن نسبة الخطأ المحتمل وجودها في العينة حيث ان القراءات القياسية للحامض النووي هي كالآتي:

DNA= 1.8 ~

RNA= 2.0 ~

اما القراءات التي تختلف عن هذه النسب فهي دلالة على وجود تلوث في العينة، اي ان العينة لازالت حاوية على البروتين او بعض المواد الاخرى .تتم القراءة عند طول موجي 260 - 280 nm .

طريقة عمل الجهاز:

١- اختر الايقونة الخاصة بالجهاز (Nanodrop) الموجودة على سطح المكتب.

٢- اختر Nucleic acid من القائمة .

٣- اختر نوع الحامض النووي DNA،

٤- اختر الوحدة القياسية الخاصة بالحامض النووي وهي ng/μL.

- ٥- اختر الطول الموجي الملائم للمحلول المراد فحصه، ان الطول الموجي ٢٨٠-٢٦٠ هو الملائم لقياس وتقدير الحامض النووي.
- ٦- اختر الايكونه (add to the report) لاضافة جميع القياسات الخاصة بجميع عيناتك وحفظها لحين الرجوع اليها عند الحاجة.
- ٧- صفر الجهاز بواسطة (Blank المحلول المذيب للحامض النووي). يجب ان يكون هذا المحلول مذيب جيد للحامض النووي اضافة الى ان ال-Blank المستعمل لتفسير الجهاز يجب ان يكون بنفس درجة pH ونفس الدرجة الايونية للمحلول المستعمل للمذيب للحامض النووي (DNA).
- ٨- ضع ١-٢ μ l من محلول البلانك على عدسة الجهاز ثم انزل ذراع الجهاز. ثم اضغط على كلمة (blank)
- ٩- نظف العدسة بورق التنظيف الخاص ثم ضع العينة واضغط على كلمة (Measure) لبدء الجهاز بالقياس.

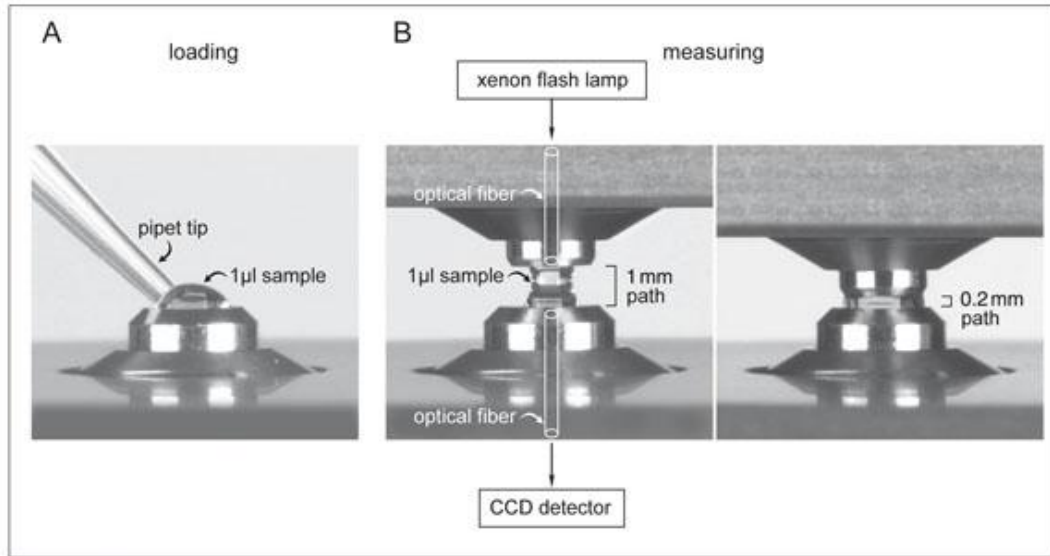


Figure A.3D.2 The NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer microvolume sample retention system. (A) A sample volume of 1 μ l is dispensed onto the lower optical surface. (B) Once the instrument lever arm is lowered, the upper optical surface engages with the sample, forming a liquid column with the path length defined by the gap between the two optical surfaces. During each measurement, the sample is assessed at both a 1-mm and 0.2-mm path, providing a large dynamic range of nucleic acid detection.