لقياس درجة نقاوة الحمض النووي DNA

قياس تركيز ونقاء الحمض النووي

- **عند عزل الحمض النووي ، نلاحظ أنه قد يحتوي عل العديد من الملوثات ، مثل احتوائه على كميات كبيرة من البروتينات أو الحمض النووي RNA .**
- **هناك إجراءات متعددة يمكن استخدامها لإزالة هذه الملوثات وترك الحمض النووي بشكل نقي .**
- **من طرق تنقية الحمض النووي :**

١. **التخلص من البروتينات : عن طريق اضافة خليط من (الفينول: الكلوروفورم: كحول أيزوأميل)**

٢. **ويمكننا التخلص من RNA عن طريق اضافة انزيم الريبونيوكليز .**

حساب تركيز الحمض النووي DNA باستخدام جهاز الطيف الضوئي SPECTROPHOTOMETER

التأكد من نقاء الحمض النووي :

- قياس الامتصاص عن الطول الموجي ٢٦٠ و ٢٨٠ NM

$$\text{CONCENTREATION OF DNA} = \frac{\text{O.D X 260 X 50 X DILUTION FACTOR}}{1000}$$

- **وتكون قيمة الناتج ١,٧- ١,٨**
- **أما إذا كان تركيز DNA خارج هذا المدى لا تكون العينة صالحة ، وهذا يعني عدم ذوبان الحمض النووي أو وجود شوائب مثل البروتينات**

فمثلاً يتم التنقية من البروتينات بإزالة الجسيمات الغير قابلة للتحلل، حيث يتم فصل البروتينات الهستونية والخلوية والمواد الغيرقابلة للذوبان باستخدام الطرد المركزي ومواد مذيبة كالكلوروفورم.

لإزالة البروتينات :

١. -تحليل البروتينات باستخدام انزيم محلل للبروتينات PROTEASE وهي خطوة احتياطيه يتم اجراءها عادة للتأكد من عدم(أو تقليل)تلوث عينة الحمض النووي بالبروتينات.

٢. -أو ترسيب البروتينات باستخدام مادة خلات الصوديوم أو الأمونيوم SODIUM OR AMMONIUM ACETATE

٣. -أو فصل البروتينات باستخدام مخلوط من الكلوروفورم والفينول قبل خطوة ترسيب الحمض النووي.

- يجب ترسيب الحمض النووي وتحويله من الصوره الذائبه إلى الراسب الخيطي باستخدام الكحول الايثيلي المثلج أو كحول الايوزبروبانول لعدم ذوبانية الحمض النووي بها حيث يتم فصل الأملاح الملوثة له(القابلة للذوبان في الكحول) .

الإذابة والحفظ

يتم تعليق الحمض النووي النقي بإذابته في ماء مقطر معقم أو في محلول منظم مثل TRIS EDTA) TE(BUFFER.

باستخدام هذه الطريقة يمكن الحصول على حمض نووي نقي.