

# دفترچه راهنما ریل تایم الکتروفورز ( Real-Time Electrophoresis )

شرکت دانش بنیان دناژن تجهیز  
طراح و تولیدکننده تجهیزات آزمایشگاهی و بیوتکنولوژی





ريل تايم الكترولفورز ( Real-Time Electrophoresis )

[www.Denagene.com](http://www.Denagene.com)



از اینکه دستگاه ریل تایم الکتروفورز دناژن تجهیز را انتخاب نموده‌اید خرسندیم. این دفترچه راهنما تنها برای مشتریان شرکت دناژن تجهیز طراحی و تدوین شده است تا با استفاده بهینه از اطلاعات و راهنمایی‌های موجود در این دفترچه از دستگاه‌ها به بهترین نتایج برسید.

لطفاً قبل از شروع به کار دستورالعمل‌های لازم را بخوانید. این دستگاه فقط برای استفاده تحقیقاتی و تشخیصی مناسب است. که باید توسط پرسنل متخصص استفاده گردد. در صورت هرگونه استفاده غیرمعمول و نیز تغییرات ایجاد شده در آن توسط افراد فاقد صلاحیت، شرکت دناژن تجهیز مسئولیت هرگونه صدمه وارد شده به دستگاه را تقبل نمی‌کند.

تمامی محتوا و اطلاعات موجود در دفترچه راهنما تحت حفاظت حقوق کپی رایت دناژن تجهیز می‌باشد. هرگونه استفاده غیرمجاز از این محتوا تحت پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت. استفاده از این مطالب برای مقاصد تجاری یا در دسترس افراد و شرکت‌های غیرمجاز ممنوع است.

در صورت بروز هرگونه سوال یا نیاز به پشتیبانی، با تیم پشتیبانی تماس حاصل فرمایید.



۱	مقدمه
۲	ایمنی
۳	مشخصات فنی
۴	نحوه نگهداری
۵	قطعات مورد نیاز
۶	ویژگی های ژل آگارز
۷	فاکتورهای تاثیرگذار بر مهاجرت اسیدهای نوکلئیک در ژل
۸	مکانیسم مهاجرت
۹	تهیه ژل
۱۰	بارگزاری نمونه ها
۱۱	شروع عمل الکتروفورز
۱۳	بافر ها
۱۴	کاربرد ها
۱۵	مشکلات و دلایل احتمالی

## ریل تایم الکتروفورز

الکتروفورز آگارز نوعی از ژل الکتروفورز می باشد که در زمینه های بیوشیمی ، ژنتیک و دیگر زیر گروه های علوم سلولی و مولکولی جهت جداسازی انواع توالی DNA، RNA و یا پروتئین در یک بستر ایجاد شده با استفاده از ژل آگارز مورد استفاده قرار می گیرد. معمولا جداسازی مولکول های زیستی با اعمال نمودن یک میدان الکتریکی بر روی این بستر رخ می دهد. ژل های آگارز به راحتی قابل شکل گیری می باشند و مهم ترین گزینه جهت جداسازی انواع مختلف DNA در آزمایشگاه می باشند. DNA جدا سازی شده را می توان با رنگ آمیزی زیر نور مناسب مشاهده نمود.

قبلا از رنگ اتیدیوم بروماید جهت مشاهده باندهای DNA استفاده می شد که قابلیت مشاهده با استفاده از نور UV را دارد. اما امروز رنگ های مختلف با کیفیت مناسب و قابلیت جهش زایی کم تر نسبت به اتیدیوم بروماید در بازار موجود است که با نورهای مریی هم قابل مشاهده می باشند.

در سیستم های ریل تایم الکتروفورز ساخت دنا ژن تجهیز کاربر به سادگی قادر به جداسازی انواع اسیدهای نوکلئیک می باشد. ژل های آگارز به راحتی با استفاده از سیستم ژل کستینگ مناسب تهیه می شوند. سیستم های الکتروفورزی دناژن تجهیز به گونه ای طراحی شده اند که برای سال ها قابلیت استفاده با کیفیت بالا را دارند.

ریل تایم الکتروفورز مدل خاصی از سیستم الکتروفورز افقی می باشد که بدون هیچ گونه نیازی به سایر دستگاه ها قادر است تا انتهای مشاهده کیفیت نتایج، همه ی مراحل در آن صورت گیرد.

در واقع این دستگاه شامل 3 دستگاه الکتروفورز افقی، منبع تغذیه و ترانسلومیناتور جهت مشاهده باند DNA می باشد. الکتروفورز افقی مدل Midi معادل الکتروفورز افقی 10x10 می باشد. منبع تغذیه آن دارای سه مدل ولتاژی 50 ، 100 و 150 ولت می باشد.

ترانسلومیناتور آن از زیرمجموعه خانواده safe illuminator می باشد که می توان از آن به عنوان یک ترانسلومیناتور جداگانه نیز استفاده کرد. در واقع طول موج استفاده شده در این دستگاه 470 نانومتر می باشد که این امر موجب حداقل کردن استفاده از نور دستگاه جهت مشاهده باندهای DNA می شود.

همچنین ذکر این نکته حایز اهمیت است که کلیه رنگ های DNA به جز اتیدیوم بروماید قابلیت مشاهده با این طول موج را دارند. از طرف دیگر با در نظر گرفتن کلیدی ترین ولتاژ های مورد استفاده در الکتروفورز منبع تغذیه این دستگاه طراحی شده است.

با توجه به دقت ولتاژ اعمال شده (دقت ولتاژ دستگاه کمتر از 1 ولت می باشد) و کیفیت مشاهده باندها که هر دو مورد بسیار خوب می باشد و همچنین بحث میزان بسیار کم فضای اشغال شده در آزمایشگاه، به محققین و متخصصین توصیه می شود جهت سهولت هرچه بیشتر کارهای تحقیقاتی خود از این سیستم استفاده کنند.

- قبل از هرگونه استفاده راهنمای استفاده را به طور کامل مطالعه نمایید.
- سیستم های ریل تایم الکتروفورز ساخت دنا ژن تجهیز با حداکثر امنیت و استفاده آسان کاربر طراحی شده اند.
- قبل از هرگونه استفاده محفظه تانک، منبع تغذیه و ترانسلومیناتور را چک نمایید که کاملاً سالم باشند.
- با توجه به استفاده در ولتاژ بالا حتماً از استفاده افراد غیرحرفه ای اجتناب گردد.
- در صورت هرگونه استفاده غیر معمول و نیز تغییرات ایجاد شده در آن توسط افراد فاقد صلاحیت، شرکت دنا ژن تجهیز مسؤلیت هر گونه صدمه وارد شده به دستگاه را تقبل نمی کند.

Midi Real-Time Electrophoresis	مدل
۷×۱. ۱.×۱.	ابعاد ژل (سانتی متر)
۵. - ۱۰. - ۱۵.	ولتاژ پاور (ولت)
۲۰۰ تا	جریان (میلی آمپر)
۷×۱۷×۲۳	ابعاد تانک (سانتی متر)
۳۰۰-۴۵۰	حجم بافر (میلی لیتر)
۱۰ یا ۱۴	تعداد نمونه (کامب دو طرفه)
۴۲	حداکثر تعداد نمونه



- محفظه ریل تایم الکتروفورز باید با استفاده از محلول دترجنت ملایم در آب گرم شسته شود.
- توجه شود که سیم الکتروود در هنگام تمیزکاری پاره نشود و یا صدمه نبیند.
- جهت حفظ ماندگاری و عمر دستگاه مواد شوینده سازگار با دستگاه باید جهت شستشو استفاده شوند. این مواد شامل:

محلول های صابونی و دترجنت های ملایم حلال های آلی مانند: هگزان و هیدروکربن های آلیفاتیک

نکته: اجزای پلاستیکی را بیش از ۳۰ دقیقه در دترجنت نگذارید.

از مواد شیمیایی زیر جهت تمیز کردن دستگاه استفاده نشود، زیرا می توانند موجب خوردگی و از بین بردن قطعات دستگاه شوند:

"کلروفرم، تتراکلرید کربن، بنزن، فنول، تولوئن، متیل اتیل کتون، استون، متانول، اتانول، ایزوپروپیل الکل"  
دستگاه را در دمای بالاتر از ۶۰ درجه سانتی گراد قرار ندهید. همچنین اجزای دستگاه را با استفاده از اتوکلاو تمیز نکنید.

جهت از بین بردن آنزیم های RNase در دستگاه، آن را به مدت ۱۰ دقیقه با هیدروژن پراکسید تیمار نمایید و سپس با آب DEPS treated /۱ درصد شستشو نمایید.

توجه شود که DEPC یک عامل مشکوک به سرطان زایی است. پس لازم است هنگام کار با آن نکات ایمنی را کاملاً رعایت نمایید.



## لیست قطعات و لوازم همراه ریل تایم الکتروفورز

در ذیل لیست قطعات همراه با هر مدل ریل تایم الکتروفورز با جزئیات آمده است

■ تری: هر مدل ریل تایم الکتروفورز کامب و تری مخصوص خود را دارد. همچنین تعداد کامب و تری هر الکتروفورز متفاوت می باشد.

■ کامب مخصوص: در شکل زیر انواع سایز کامب ریل تایم الکتروفورز کنار هم آمده است. هر سایز مربوط به یک مدل خاص ریل تایم الکتروفورز می باشد.

■ تانک ریل تایم الکتروفورز: در شکل پایین به عنوان یک مثال، ریل تایم الکتروفورز مدل midi به همراه کلیه قطعاتی که همراه آن است، آورده شده است.

حجم بافر	۳۶.-۳۲. ml	۳.-۴. ml
تعداد نمونه (کامب دو طرفه)	۷ or ۱.	۱۴ or ۱.
حداکثر تعداد نمونه	۲.	۴۲



دقت شود که ریل تایم الکتروفورز برخلاف سیستم های روتین و سنتی الکتروفورز فاقد سیم رابط می باشد؛ چرا که جهت اتصال الکتروفورز به پاور سیستم رابط داخلی تعبیه شده است.

## ویژگی های ژل آگارز

ژل آگارز نوعی ماتریکس سه بعدی تشکیل شده از مولکول های هلیکسی آگارز می باشد که با کنار هم قرار گرفتن به صورت سه بعدی منافذی ایجاد می نمایند که جهت جداسازی بیو مولکول ها فوق العاده مناسب می باشند.

تمام این ساختار سه بعدی تشکیل شده حاصل پیوند های هیدروژنی می باشد که می توان با افزایش درجه حرارت آن را از بین برد. دمای ژله ای شدن آگارز بسیار متفاوت از دمای ذوب آن می باشد. بسته به نوع منبع، آگارز دارای دمای ژله ای شدن بین ۴۲-۳۵ درجه سانتی گراد می باشد و دمای ذوب آن حدود ۹۵-۸۵ درجه سانتی گراد می باشد.

ژل آگارز به دلیل اندازه بزرگ منافذ و قدرت ژل بالای آن برای الکتروفورز پروتئین های بزرگ و نیز DNA بسیار مناسب می باشد. ژل آگارز ۱٪ دارای منافذ در حدود ۱۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر می باشد. غلظت های پایین ژل بسیار ظریف می باشند و جابجایی آنها خیلی مشکل دارد. ژل آگارز به دلیل اندازه بزرگ منافذ، قدرت جداسازی و تفکیک پایین تری نسبت به اکريل آمید برای DNA دارد، اما دامنه جداسازی آن بسیار وسیع تر می باشد.

حداکثر بازه جداسازی توسط این نوع ژل حدود ۷۵ کیلو باز می باشد، اما برای جداسازی های در حد ۶ مگا باز از تکنیک PFGE استفاده می شود. این تکنیک همچنین برای جداسازی پروتئین های بزرگ نیز کاربرد دارد و می تواند با کارایی بالایی ذرات دارای شعاع موثر بیشتر از ۱۰-۵ نانومتر را جدا سازد. یک ژل آگارز ۰.۹٪ آنقدر بزرگ می باشد که باکتریوفاژ T۴ بتواند وارد آن شود.

percent Agarose gel (W/V)

DNA size resolution (kb/1000)

۰.۵٪

1 kb to 30 kb

۰.۷۵٪

800 bp to 12 kb

۱٪

500 bp to 10 kb

۱.۳٪

400 bp to 7 kb

۱.۵٪

200 bp to 3 kb

۲٪

50 bp to 2 kb

### غلظت های مختلف آگارز جهت جداسازی قطعات DNA با اندازه های متفاوت

پلیمر آگارز دارای یک سری بارهای منفی بر روی گروه های باردار پیرووات و سولفات می باشد. این گروه های بار منفی طی فرایندی به نام الکترواندو اسموزیس (EEO) موجب حرکت جریان آب به سمت مخالفت حرکت DNA می گردند. همین امر موجب ایجاد تاخیر در حرکت مولکول DNA و متعاقباً جداسازی آن می گردد که موجب ضعیف شدن باندهای تشکیل شده می گردد.

## فاکتورهای تاثیرگذار بر مهاجرت اسیدهای نوکلئیک در ژل

فاکتورهای زیادی می توانند مهاجرت اسیدهای نوکلئیک را تحت تاثیر قرار دهد: اندازه های منافذ ژل (غلظت ژل)، اندازه قطعات DNA، ولتاژ اعمال شده، قدرت یونی بافر، و غلظت رنگ DNA (مانند DeNA Gel Stain) در صورتی که در طی الکتروفورز افزوده شود. مولکول های کوچک تر سریعتر از مولکول های بزرگتر در ژل حرکت می کنند و DNA دو رشته ای با نرخ LOG/1 تعداد بازها در ژل حرکت می کند. اما این رابطه برای توالی های با طول بسیار بلند صادق نمی باشد. افزایش غلظت ژل موجب کاهش سرعت حرکت DNA بر روی ژل می شود. از طرف دیگر کنفورماسیون DNA می تواند حرکت آن را بر روی ژل تحت تاثیر قرار دهد. به عنوان مثال DNA سوپر کویل شده دارای حرکتی سریع تر از DNA ریلکس می باشد، زیرا DNA سوپر کویل شده فشرده تر می باشد و از این رو راحت تر بر روی ژل حرکت می کند. ژل الکتروفورز مولکول های پلاسمیدی نشان دهنده حالت سوپر کویل منفی می باشد. اما مولکول DNA حلقوی باز (Nicked) و فرم های ریلکس حلقوی به صورت باندهای کوچکتر ظاهر می شوند.

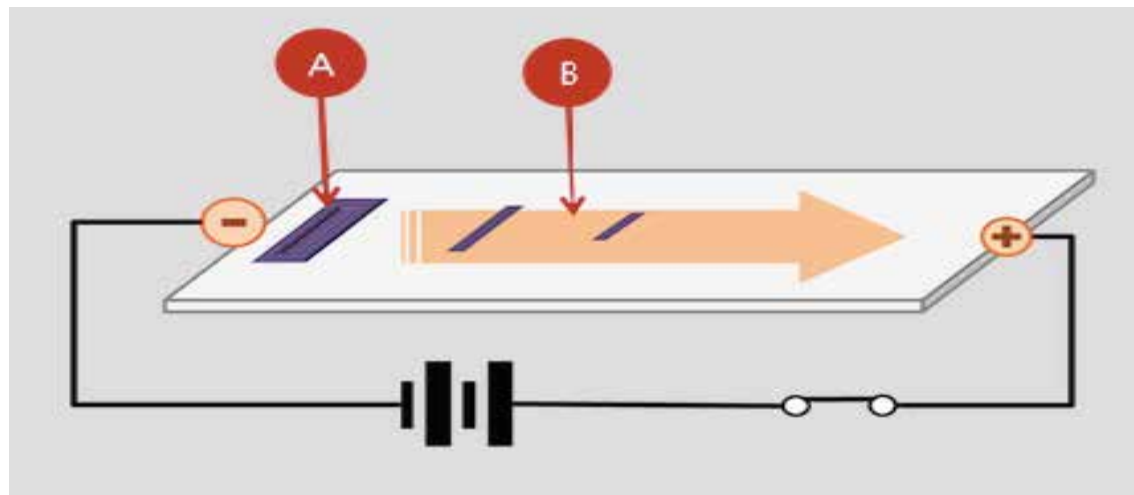
DeNA Gel Stain که به دو رشته DNA متصل می شود، می تواند بار، طول و نیز حالت سوپر کویل مولکول DNA را تحت تاثیر قرار دهد و بنابراین حضور آن در ژل در هنگام عمل الکتروفورز حرکت DNA را تحت تاثیر قرار می دهد. ژل الکتروفورز آگارز می تواند جهت جداسازی انواع DNA حلقوی با توپولوژی سوپر کویلینگ مختلف نیز مورد استفاده قرار بگیرد.

ژل خندان (smiley gel): این حالت زمانی رخ می دهد که ولتاژ اعمال شده برای غلظت های ژل مورد استفاده خیلی زیاد باشد. بیش از اندازه DNA ریختن: این امر موجب حرکت کند قطعات DNA خواهد شد.

کثیف شدن ژل: وجود ناخالصی هایی مانند نمک ها و یا پروتئین ها می تواند حرکت DNA را تحت تاثیر قرار دهد.

## مکانیسم مهاجرت DNA و جداسازی آن

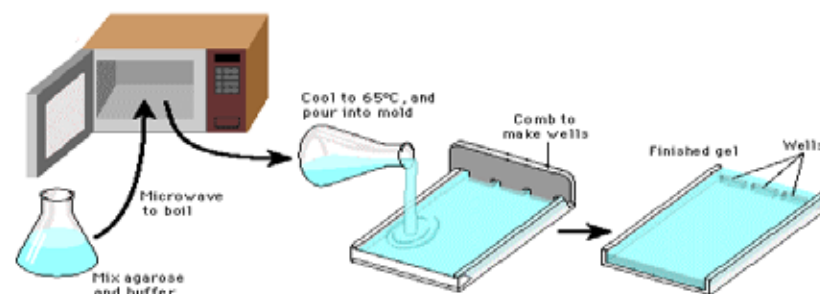
بار منفی چارچوبه های فسفاتی مولکول DNA را به سمت آند دارای قطب مثبت حرکت می دهد. باید در نظر گرفته شود که در عدم حضور ماتریکس ژلی مهاجرت مولکول DNA مستقل از وزن مولکولی و اندازه آن می باشد. پس می توان گفت نقش ماتریکس ژلی جداسازی DNA بر اساس اندازه طی عمل الکتروفورز می باشد.



شکل ۳. شمای کلی عمل الکتروفورز و جهت حرکت اسیدهای نوکلئیک

## عمل الکتروفورز

فرایند الکتروفورز آگارز چندین مرحله متوالی دارد که به صورت خلاصه تهیه ژل، بارگذاری نمونه ها، شروع عمل الکتروفورز و نهایتاً مشاهده نتایج می باشد. در پایین به صورت مفصل هر مرحله توضیح داده شده است.



## تهیه ژل

ژل آگارز را می توان با حل نمودن پودر آگارز در بافر مناسب (مانند TAE یا TBE) بدست آورد. پودر آگارز ابتدا در بافر مورد نظر حل می شود و سپس تا نزدیک دمای جوش گرم می شود، اما باید دقت کرد که نجوشد.

آگارز ذوب شده قبل از ریختن در ژل تری به خوبی سرد شود. اگر دمای آن بسیار بالا باشد، ممکن است تری ژل سوراخ شود.

شانه را قبل از ریختن آگارز ذوب شده در تری قرار داده تا به خوبی چاهک های مخصوص بارگیری نمونه تشکیل شوند. غلظت ژل ۱٪ معمولا برای یک عمل الکتروفورز روتین تهیه می شود.

## بارگیری نمونه ها

هنگامی که ژل بسته شد، شانه را از آن بیرون آورده و حالا می توان با قرار دادن آن در محفظه تانک و ریختن بافر تازه به اندازه کافی نمونه ها را بارگذاری کرد.

باید دقت کرد که قبل از بارگذاری نمونه ها، آنها را با بافر Loading مخلوط نمود تا به راحتی در چاهک ها قرار بگیرند. معمولا بافر loading از یک ترکیب با چگالی بالا مانند گلیسرول، ساکاروز و یا فیکول می باشد که چگالی کلی نمونه ها را بالا می برد و نمونه DNA به راحتی در ته چاهک قرار خواهد گرفت.

بافر Loading همچنین شامل رنگ هایی مانند زایلن سیانول و بروموفنول بلو می باشد. این رنگ ها به منظور نشان دادن میزان پیشرفت نمونه ها بر روی ژل مورد استفاده قرار می گیرند (اصطلاحا به این رنگ ها Tracing Dyes گفته می شود). حالا نمونه های DNA را با استفاده از پمپت بارگذاری کنید.

# شروع عمل الكتروفورز

## شروع عمل الکتروفورز

ژل الکتروفورز آگارز معمولاً در سیستم های الکتروفورز submarine (حالت های الکتروفورز که ژل در بافر غوطه ور می شود) ران می شود و در حین عمل الکتروفورز ژل کاملاً در بافر غوطه ور می شود.

همچنین می توان این نوع الکتروفورز را در سیستم الکتروفورزی عمودی انجام داد، اما کمتر از این نوع روش جهت الکتروفورز آگارز استفاده می شود.

باید دقت شود که ولتاژ بالاتر موجب جداسازی سریع تر نمونه ها خواهد شد، اما موجب ذوب شدن ژل و نیز بافر می گردد و از این رو جداسازی نمونه ها با کیفیت خوبی صورت نگیرد. ولتاژ پایین نیز می تواند موجب پهن شدن باندها برای قطعات کوچک DNA شود.

به دلیل آنکه مولکول DNA در نور معمولی قابل مشاهده نمی باشد، همراه آنها رنگ هایی نیز بارگذاری می گردد. زایلین سیانول (آبی کم رنگ) به همراه مولکول های بزرگ DNA مهاجرت می کند، اما بروموفنل بلو (آبی تیره) همراه با قطعات کوچک تر DNA مهاجرت می کند.

همچنین طی بارگذاری نمونه ها یک مارکر DNA نیز در چاهک جداگانه ای افزوده می شود. این مارکر حاوی قطعاتی از مولکول DNA با وزن های مشخص می باشد که برای تخمین وزن مولکول های DNA مورد استفاده قرار می گیرد. باید در نظر گرفته شود که حرکت مولکول های حلقوی DNA (مانند پلاسمید) متفاوت از حرکت مولکول های خطی DNA می باشد و نمی توان با مارکر های معمول به تخمین وزن آنها پرداخت. از این رو لازم است قبل از ران نمودن آنها بر روی ژل با استفاده از آنزیم های محدود الاثر آنها را به صورت خطی در آورد.



مولکول های DNA و RNA در ریل تایم الکتروفورز قابلیت رنگ آمیزی با کلیه رنگ ها به جز اتیدیوم برماید را دارند. رنگ هایی که می توان از آنها برای رنگ آمیزی جهت مشاهده در ریل تایم الکتروفورز استفاده نمود عبارتند از: دنا ژل استین، سایبرگرین، ژل رد، رنگ های خانواده safe. در جدول پایین تعداد بیشتری از رنگ های مورد استفاده در ریل تایم الکتروفورز آمده است.

نکته: در صورتی که مرکز تحقیقات یا آزمایشگاه شما از یک رنگ خاص استفاده می کند که در لیست ارایه شده در این جا موجود نمی باشد، قبل از اقدام به خرید جهت اطمینان بهتر با شرکت مشاوره کنید.

تست ایمر قابلیت موتاژتیک (جهش زایی) را نشان می دهد. جهت مشاهده نمونه ها با استفاده از سایبرگرین لازم است که از ترانسلومیناتور با رنگ آبی استفاده گردد. با توجه با راهنمای رنگ آمیزی با استفاده از رنگ ها که در شکل زیر آمده است، کاربران قابلیت استفاده از کلیه رنگ های سالم تولید شده امروزی را دارا می باشند. البته شرکت دنا ژن تجهیز خود نیز رنگ خاصی را تولید کرده است که با توجه به نتایج تست ایمر در رده رنگ های safe قرار گرفته است و تحت نام تجاری DeNA gel stain در بازار عرضه می شود. این رنگ بهترین نتایج را با دستگاه ریل تایم الکتروفورز داده است. از این رو به محققین و متخصصین توصیه می شود با در نظر گرفتن قیمت مناسب و همچنین کیفیت بالای این رنگ، از آن جهت مشاهده باندهای DNA استفاده شود.

### Selection Guide

Cat. No.	UV Light	Blue Light
SYBR® Green I (DNA)	✓	✓✓
SYBR® Green II (RNA)	✓	✓✓
SYBR® Gold	✓	✓✓
Midori Green Direct	✓	✓✓
Hydra Green™ Safe DNA Dye	✓	✓✓
HD Green™ DNA Stain	✓	✓✓
Novel Juice	✓	✓✓
SafeView DNA Stain	✓✓	✓✓
SYBR® Safe	✓	✓✓
Midori Green	✓	✓✓
Midori Green Advanced	✓	✓✓
GelGreen™	✓	✓✓
GelRed™	✓✓	✓
Ethidium Bromide	✓✓	
Serva DNA Stain Clear G	✓✓	
HealthView™	✓✓	

✓✓ Excellent

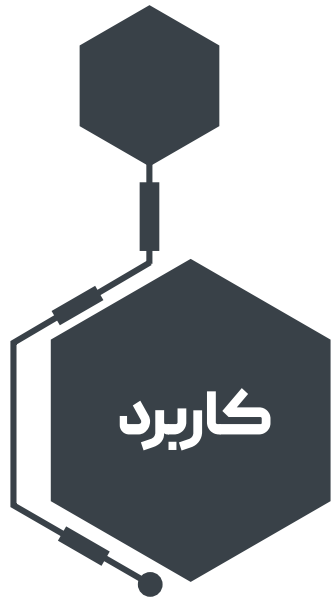
✓ Good

در واقع بار خالص ماکرومولکول های زیستی بسیار وابسته به pH محیط می باشد. به منظور کاهش تغییرات pH ایجاد شده در اثر میدان الکتریکی، عمل الکتروفورز در محیط بافری صورت می گیرد. به طور معمول بافر ایده آل باید دارای هدایت پذیری بالا باشد و همچنین گرمای کمتری تولید کند و زمان ابقا طولانی داشته باشد.

تعدادی از بافرها که برای الکتروفورز آگارز جهت جداسازی اسیدهای نوکلئیک استفاده می شوند عبارتند از: تریس استات EDTA (TAE) و تریس بورات EDTA (TBE). بافرهای دیگری نیز مورد استفاده قرار می گیرند که نسبت به دو بافر ذکر شده کاربری بسیار کمتری دارند.

بافر تریس دارای ظرفیت بافری بالایی می باشد اما در صورتی که DNA استخراج شده در واکنش حساس با فسفات مورد استفاده قرار می گیرد، نمی توان از آن استفاده کرد. بافر TAE دارای کمترین ظرفیت بافری می باشد اما قدرت تفکیک آن برای مولکول های بزرگ DNA بسیار خوب می باشد. معمولا بافرهایی که حاوی EDTA هستند، جهت غیر فعالسازی انواع نوکلئازهایی که نیازمند کاتیون های دو ظرفیتی جهت فعالیت خود می باشند، استفاده می کنند.

در صورتی که باید جداسازی در حد جفت باز صورت گیرد، باید از ژل با ۳٪ آگارز و نیز محیط با هدایت پذیری فوق العاده پایین که توسط بافر امیلی مولار لیتیوم بورات ایجاد می گردد، استفاده شود. در صورت استفاده از بافرها برای مدت طولانی، ظرفیت بافری آنها کم خواهد شد و شاید نتواند دیگر محیط لازم جهت انجام عمل الکتروفورز را فراهم آورد.



- تخمین اندازه مولکول‌های DNA بعد از برش با آنزیم‌های محدودالاکثر: به عنوان مثال نقشه‌یابی DNA کلون شده بعد از در معرض قرار گرفتن آنزیم‌های محدودالاکثر.
- مشاهده باندهای مختلف DNA
- آنالیز محصولات PCR: به عنوان مثال استفاده در تشخیص ژنتیک و یا Genetic fingerprinting
- جداسازی قطعات DNA برای استخراج و تخلیص
- جداسازی DNA ژنومی بریده شده قبل از انتقال ساترن و یا برای RNA قبل از انتقال نورترن بلائینگ ((northern blotting

## نکته

ژل‌های آگارز به راحتی قابل شکل‌گیری و جابجایی هستند و همچنین اسیدهای نوکلئیک هیچ گونه واکنش شیمیایی با آنها انجام نمی‌دهند. نمونه‌ها در آن به راحتی قابل جستجو هستند. بعد از اتمام آزمایش، ژل بدست آمده را می‌توان در یک نایلون قرار داد و در یخچال نگهداری کرد.

## اسمیر شدن باندها

- تجزیه شدن DNA توسط نوکلئازها
- شرایط نامناسب الکتروفورز
- اثر Gel shift
- بارگذاری بیش از اندازه DNA
- غلظت بالای نمک در نمونه
- شکل گیری نامناسب چاهک های ژل

## باندهای منحنی شکل DNA

- ژل به طور کامل در بافر الکتروفورز قرار نگرفته است
- حجم نمونه ها کم می باشد
- شرایط عمل الکتروفورز نامناسب است
- حباب ها و یا ذرات بزرگی در چاهک های ژل و یا خود ژل موجود می باشند

## شدت پایین همه یا تعدادی از باندهای DNA

- بارگذاری مقدار کم DNA Ladder
- رنگ آمیزی ناکافی و یا ناهمگون
- خارج شدن DNA از ژل
- نفوذ و پخش شدن DNA در ژل
- پوشیده شدن DNA توسط رنگ های مورد استفاده در رنگ آمیزی

## مهاجرت غیرطبیعی

- ژل خندان (gel smiley): بیش از اندازه DNA ریختن
- کثیف شدن ژل: وجود ناخالصی هایی مانند نمک ها و یا پروتئین ها می تواند حرکت دهد

## تعیین مقدار غلظت

- شرایط بارگیری متفاوت بین مارکر DNA و نمونه ها
- تعیین باند غلط مارکر برای تعیین مقدار نمونه
- استفاده از روش تعیین مقدار نامناسب
- رنگ آمیزی ناهمگون ژل و نیز رنگ شدن پس زمینه می تواند بر نتایج تعیین مقدار ژل اثر بگذارد
- پوشیده شدن DNA توسط رنگ های مسیریابی

## الگوهای باند غیر معمول

- قبل از بارگیری DNA مارکر گرم نشده است
- دناتوره شدن DNA
- شرایط بارگیری متفاوت برای نمونه DNA و مارکر DNA
- شرایط نامناسب الکتروفورز
- استفاده از درصد ناصحیح ژل و یا بافر
- مهاجرت غیر معمول به دلیل توالی ها و یا ساختارهای مختلف DNA
- اثر Gel shift
- غلظت بالای نمک در نمونه ها

## باقی ماندن DNA در ژل

- شکل گیری نامناسب چاهک های ژل
- بارگیری بیش از اندازه DNA
- آلوده شدن نمونه DNA
- اثر Gel shift

برای دریافت آخرین خدمات و اطلاعات پشتیبانی ، به آدرس اینترنتی زیر مراجعه کنید



ویدیوهای آموزشی

پشتیبانی فنی

سؤالات متداول

فکس

خدمات فروش

شماره تماس

اسکن کنید

[www.Denagene.com](http://www.Denagene.com)