

۱- هدف: تشریح کار با دستگاه پالس فیلد ژل الکتروفورز و فرایند انجام آن .

۲- دامنه عملکرد: یک تکنیک آزمایشگاهی است که برای جداسازی مولکول‌های DNA بزرگ (تا ۱۰ مگاباز) استفاده می‌شود. این روش با تغییر جهت میدان الکتریکی در فواصل زمانی منظم کار می‌کند، که به DNA های بزرگ اجازه می‌دهد در ژل آگارز حرکت کنند و جدا شوند. این روش به ویژه برای تایپ‌بندی میکروبی (شناسایی سویه‌های مختلف باکتری) و بررسی ساختار ژنتیکی میکروارگانیسم‌ها کاربرد دارد.

۳- مسئولیت: مسئولیت اجرای این دستور العمل با کارشناسان آزمایشگاه مربوطه می باشد.

۴- روش کار:

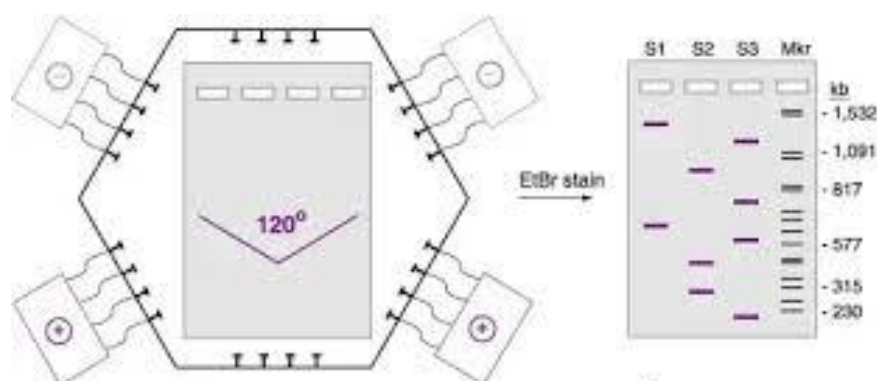
• آماده‌سازی نمونه:

ابتدا، DNA باکتری یا میکروارگانیسم مورد نظر از سلول‌های آن استخراج می‌شود. معمولاً، DNA در یک بلوک آگارز قرار می‌گیرد تا از آسیب دیدن آن جلوگیری شود.

• هضم DNA با آنزیم‌های محدودکننده:

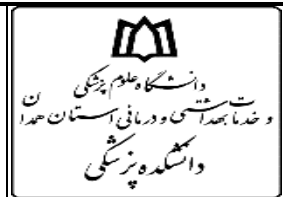
• بارگیری نمونه‌ها در ژل آگارز:

یک میدان الکتریکی با جهت‌های متناوب و پالسی به ژل آگارز اعمال می‌شود. این میدان الکتریکی باعث می‌شود مولکول‌های DNA در ژل حرکت کنند. به دلیل اندازه بزرگ مولکول‌های DNA در PFGE، استفاده از میدان الکتریکی پالسی ضروری است تا این مولکول‌ها بتوانند از میان منافذ ژل عبور کنند.



میدان الکتریکی هر ۹۰ ثانیه برای ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد، به میزان ۱۴ درجه تغییر جهت می‌دهد.

تهیه کننده: حسین فضلی	تأیید کننده: دکتر محمد رضا عربستانی	تصویب کننده:	تاریخ اجرا:
سمت: سوپر وایزر آزمایشگاه	سمت: مدیر گروه میکروبیشناسی	سمت:	تاریخ بازنگری:
تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء:	شماره صفحه: ۱ از ۲



عنوان مدرک: دستورالعمل کار با
دستگاه پالس فیلد ژل الکتروفورز

کد مدرک:

WI- ML-6473

بازنگری:

• تنظیمات الکتروفورز (مانند ولتاژ، زمان و دمای)

• رنگ آمیزی ژل و تصویربرداری:

مولکول های DNA بر اساس اندازه از هم جدا می شوند و سپس با استفاده از رنگ های مخصوص، قابل مشاهده می شوند.

• آنالیز داده ها :

الگوهای ایجاد شده از نوارهای DNA با هم مقایسه می شوند تا سویه های مختلف میکروبی شناسایی شوند و یا ساختار ژنتیکی میکروارگانیسم ها بررسی گردد.

مزایای PFGE:

• تفکیک مولکول های بزرگ: این روش به ویژه برای جداسازی مولکول های DNA بزرگ که در روش های دیگر به سختی قابل تفکیک هستند، مناسب است.

• تکرارپذیری بالا: نتایج PFGE در شرایط آزمایشگاهی یکسان، معمولاً تکرارپذیر هستند.

• حساسیت بالا: این روش به ویژه برای شناسایی تفاوت های ژنتیکی کوچک بین سویه های مختلف میکروارگانیسم ها کاربرد دارد.

۵- ایمنی کار با دستگاه:

• مواد شیمیایی:

هنگام کار با مواد شیمیایی مانند آکریل آمید، بیس آکریل آمید، آمونیوم پرسولفات (APS) و TEMED (N,N,N',N'- Tetramethylethylenediamine)، از دستکش، عینک و روپوش آزمایشگاهی استفاده کنید. این مواد سمی و جهش زا هستند و باید با احتیاط کامل با آنها کار کرد.

• برق:

الکتروفورز با ولتاژ بالا کار می کند. از تماس مستقیم با الکترودها و بافرها خودداری کنید. قبل از لمس هر قسمتی از دستگاه، از قطع بودن جریان برق اطمینان حاصل کنید.

• هود شیمیایی:

کار با موادی که بخارات سمی تولید می کنند مانند TEMED، باید در هود شیمیایی انجام شود تا از استنشاق بخارات سمی جلوگیری شود.

تهیه کننده: حسین فضلی	تأیید کننده: دکتر محمد رضا عربستانی	تصویب کننده:	تاریخ اجرا:
سمت: سوپر وایزر آزمایشگاه	سمت: مدیر گروه میکروبی شناسی	سمت:	تاریخ بازنگری:
تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء:	شماره صفحه: ۱ از ۲

۶- نحوه نگهداری:

ژل:

- ژل های پلی آکریل آمید باید در یخچال و در شرایط تاریک نگهداری شوند.
- از نگهداری ژل ها در دمای بالا یا در معرض نور خودداری کنید.
- قبل از استفاده از ژل، حباب های هوا را از آن خارج کنید.
- از ژل هایی که تاریخ انقضای آنها گذشته است استفاده نکنید.

بافر:

- بافر الکتروفورز باید تازه و با کیفیت باشد.
- بافر باید در دمای مناسب نگهداری شود.
- از بافرهای آلوده یا تاریخ گذشته استفاده نکنید.

تجهیزات:

- پس از هر بار استفاده، تمام اجزای دستگاه الکتروفورز را با آب مقطر بشویید و خشک کنید.
- از تماس مواد شیمیایی با قسمت های الکتریکی دستگاه خودداری کنید.
- به طور مرتب تجهیزات را بررسی کنید و در صورت وجود هرگونه خرابی، آن را تعمیر یا تعویض کنید.

ذخیره سازی: DNA

- DNA استخراج شده از ژل باید در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد یا پایین تر نگهداری شود.
- از یخ زدگی و ذوب مکرر DNA خودداری کنید.

در صورت بروز هرگونه مشکل، با کارشناس مربوطه مشورت کنید.

تاریخ اجرا:	تصویب کننده:	تأیید کننده: دکتر محمد رضا عربستانی	تهیه کننده: حسین فضلی
تاریخ بازنگری:	سمت:	سمت: مدیر گروه میکروبیشناسی	سمت: سوپر وایزر آزمایشگاه
شماره صفحه: ۱ از ۲	تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء: