


بازنگری: ----	کد مدرک: WI- MBL- 2411	عنوان مدرک: دستورالعمل اجرایی دستگاه الکتروفورز <b>Title: Electrophoresis Equipment Working Instruction</b>	 دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی استان گیلان دانشکده پزشکی
------------------	------------------------------	--	---

۱- هدف: اعمال جریان الکتریکی که منجر به جداسازی و شناسایی مولکول‌های باردار مانند DNA، RNA و پروتئین می‌گردد. همچنین بررسی محصولات PCR، ریل تایم و .....

۲- دامنه عملکرد: در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی، تشخیص پزشکی و پزشکی قانونی کاربرد دارد.

۳- مسئولیت: مسئولیت اجرای این دستورالعمل با کارشناسان آزمایشگاه مربوطه می‌باشد.

#### ۴- روش کار:

➤ برای تهیه ژل ابتدا مقدار معینی از پودر آگاروز وزن شده و با مقدار معینی بافر (TAE یا TBE) مخلوط می‌گردد. پس از حل شدن کامل پودر آگاروز روی حرارت، درون قالب ژل ریخته می‌شود. سپس شانه مناسب با نوع نمونه جهت ایجاد چاهک روی قالب سوار می‌شود تا پس از خنک شدن، ژل بسته شده و شکل گیرد.

➤ ابتدا دستگاه را با کلید پاور پشت آن روشن کنید. صحت عملکرد دستگاه را بررسی کرده سپس دستگاه را خاموش کنید.

➤ ژل را درون تانک قرارداده به اندازه‌ای بافر درون تانک بریزید که سطح روی ژل را بپوشاند.

➤ نمونه را با Loading Dye مخلوط کرده درون چاهک‌ها لود کنید. در کنار نمونه‌هایی که لود می‌کنید حتماً یک لدر نیز استفاده کنید.

➤ از اتصال درست فیش‌های قرمز و مشکی به پاورسپلای مطمئن شوید.

➤ چاهک‌ها باید به سمت قطب مشکی (قطب منفی یا آند) باشند، سپس نمونه‌های خود را Run کنید و بادقت در تانک را ببندید.

➤ دستگاه را روشن کنید. صفحه نمایشگر نشان دهنده ولتاژ، جریان و زمان است. ابتدا ولتاژ مورد نظر را تعیین می‌کنیم، بعد بر روی کلید Run کلیک می‌کنیم.

➤ وجود حباب‌های هوا در مجاورت چاهک‌ها نشان دهنده برقراردادن جریان است.

➤ با کلیک بر دکمه جریان میزان جریان بررسی می‌شود که میزان مطلوب آن ۴۰ تا ۶۰ آمپر است. تا اتمام کار دستگاه به تانک دست نزنید.

➤ نتایج جداسازی با این روش بسته به اندازه و اختلاف وزنی که مولکول‌ها با یکدیگر دارند و میزان ولتاژی که اعمال می‌شود و زمان الکتروفورز متفاوت خواهد بود. در صورتی که مدت زمان عمل الکتروفورز کم باشد روی هم افتادن باندها و نیز اسمیرهای غیرقابل تمایز مشاهده خواهد شد. همچنین اگر مدت زمان الکتروفورز زیاد از حد باشد ممکن است مولکول‌ها از ژل خارج شوند.

تاریخ اجرا:	تصویب کننده:	تأیید کننده: دکتر رضوان نجفی	تهیه کننده: پریسا احقری
تاریخ بازنگری:	سمت:	سمت: مسئول آزمایشگاه	سمت: کارشناس آزمایشگاه
شماره صفحه:	تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۹	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۲

➤ **ژل آگاروز:** قطر منافذ ژل زیاد، جداسازی براساس بار الکتریکی، مولکول‌های بزرگ‌تر مانند اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوپروتئین‌ها را تفکیک می‌کند.

➤ **ژل پلی‌اکریل‌آمید:** قطر منافذ ژل مشابه اندازه‌ی پروتئین‌ها، از نظر شیمیایی خنثی، شفاف و بی‌رنگ و جداسازی براساس اندازه مولکول.

➤ پس از اتمام حرکت مولکول‌ها به سمت مخالف (رسیدن نوار رنگی به وسط ژل)، جریان الکتریکی را با زدن دکمه **Pause** قطع کنید.

➤ ژل توسط دستگاه ژل داک که از نور **UV** برای آشکارسازی رنگ‌های فلوروسنت استفاده می‌کند، تصویربرداری می‌شود.

➤ سیستم کامپیوتر روشن شده سپس با دکمه **On/Off** دستگاه را روشن می‌کنیم. ژل را روی شیشه دستگاه می‌گذاریم در شیشه‌ای برای داشتن تصویر بهتر بسته نشود. بر روی صفحه **Desk Top** برنامه نصب شده بر روی آن را کلیک می‌کنیم، فرصت می‌دهیم برنامه بالا بیاید. با روش کردن کلید **White** مناسب بودن محل ژل بر روی صفحه کامپیوتر بررسی می‌شود. با خاموش کردن این دکمه، دکمه **UV** روشن شده در سمت راست صفحه علامت چشم و آیت‌های تنظیم و رنگی و سایه و سفید کردن تصویر وجود دارد. با کلیک بر روی علامت چشم تصویر ثبت شده و با زدن علامت **Save as** در گوشه سمت چپ بالای صفحه در پوشه‌ای در **Desk Top** ذخیره می‌شود.

➤ علامت مربع را بعد از ذخیره تصویر بزنید تا برنامه قطع شود.

➤ برای تغییر رنگ تصویر آیت می‌وجود دارد که می‌توان قبل از گرفتن تصویر با پائین کشیدن کشوی مربوطه زمینه رنگی را انتخاب کرد.

➤ در پائین صفحه فلشی برای چرخاندن تصویر وجود دارد که به تنظیم تصویر کمک می‌کند.

➤ از زدن فلش به سیستم خودداری کنید. می‌توانید پوشه‌ای تشکیل داده و نتایج را با **CD** از روی کامپیوتر بردارید.

➤ در پایان کار سیستم کامپیوتر و دستگاه ژل داک و سهراهی را خاموش می‌کنیم.

➤ سیم مانیتور کامپیوتر به سهراهی حتماً متصل شود و به‌طور مجزا به پریز برق زده نشود.

### 5- ایمنی کار با دستگاه:

✓ حباب هوای زیر ژل باید خارج شود چون مانع برقراری جریان بین ژل و بافر می‌شود.

✓ هنگامی که تانک به منبع تغذیه متصل است، خطر برق گرفتگی در قسمت بافر وجود دارد. بنابراین قبل از جدانمودن منبع تغذیه، اقدام به گذاشتن یا برداشتن نمونه نکنید. استفاده از در تانک شما را از خطر برق گرفتگی محافظت می‌کند.

✓ درحین کار می‌توان از ولتاژ ثابت و یا شدت جریان ثابت استفاده کرد اما ولتاژ ثابت توصیه می‌شود. از اتصال تانک به ولتاژهای بالاتر از حد مجاز (۲۰۰ ولت) بپرهیزید.

تهیه کننده: پریسا احقری	تأیید کننده: دکتر رضوان نجفی	تصویب کننده:	تاریخ اجرا:
سمت: کارشناس آزمایشگاه	سمت: مسئول آزمایشگاه	سمت:	تاریخ بازنگری:
تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۲	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۹	تاریخ و امضاء:	شماره صفحه:

✓ مولد جریان را پس از اتصال ژل به دستگاه روشن کرده و ولتاژ یا جریان را از صفر افزایش دهید. هیچگاه ژل را به مولد روشن وصل نکنید.

✓ وقتی جریان زیاد باشد حرارت نیز افزایش می‌یابد. در این حالت دمای وسط ژل بیشتر از کناره‌ها بوده و بندها به شکل نیم‌دایره دیده می‌شوند.

### راه حل مشکل:

✓ - کاهش قدرت یونی بافر (افزایش غلظت بافر)

✓ - نازک بودن ژل (۰/۷۵ تا ۱/۵ میلی‌متر)

✓ اگر لازم است با جریان زیاد کار کرد بهتر است از دستگاه خنک‌کننده استفاده کنید.

✓ دقت گردد که آب بر روی دستگاه نریخته و یادستگاه داخل آب قرار نگیرد. همیشه قبل از تمیز کردن، دستگاه، دوشاخ آن از پریز برق خارج گردد.

✓ قبل از انجام الکتروفورز دقت گردد که قطب‌های مثبت و منفی به تانک صحیح متصل شده باشد. سطح بافر در داخل تانک به اندازه کافی باشد و جهت صفحه نمونه صحیح قرار گرفته باشد.

✓ منبع تغذیه دارای ولتاژ بالا می‌تواند بسیار خطرناک باشد، همیشه به‌هنگام تمیز کردن دستگاه دقت شود که دو شاخ از پریز برق کشیده شده باشد. در هنگام باز بودن در دستگاه از آن استفاده نگردهد.

✓ سیم‌های رابط تانک و پاور ساپلای را حداقل هر یک ماه یکبار کنترل نمایید. چنانچه به دلایلی (خشک شدن و ترک خوردن در اثر نور آفتاب) روکش عایق آنها صدمه دیده باشد باید این سیم‌ها تعویض گردند.

✓ هنگام روشن بودن دستگاه آن را جابجانکنید.

✓ جهت کار با دستگاه ژل داک حتماً از دستکش استفاده کنید.

✓ از ریختن مایعات بر روی دستگاه خودداری کنید، هر محلولی که روی بردهای الکترونیکی بریزد می‌تواند به دستگاه آسیب برساند و خطر برق‌گرفتگی را در پی دارد.

✓ پس از قراردادن ژل روی صفحه دستگاه، در طول مدتی که لامپ UV روشن است، از باز کردن دستگاه و جابه‌جا کردن ژل خودداری کنید.

✓ حداکثر زمان روشن ماندن دستگاه نباید بیشتر از ۱۰ دقیقه باشد. با رعایت این نکته، طول عمر دستگاه بسیار طولانی‌تر خواهد شد.

✓ جهت کاهش آلودگی، وسایل و تجهیزات اتاق الکتروفورز را به دیگر بخش‌های آزمایشگاه منتقل نکنید.

✓ جهت کار با دستگاه و بروز هر گونه مشکل از کارشناس آزمایشگاه کمک بگیرید.


تهیه کننده: پریسا احقری	تأیید کننده: دکتر رضوان نجفی	تصویب کننده:	تاریخ اجرا:
سمت: کارشناس آزمایشگاه	سمت: مسئول آزمایشگاه	سمت:	تاریخ بازنگری:
تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۲	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۹	تاریخ و امضاء:	شماره صفحه:

- ✓ برای سمزدایی ترکیبات آلی محلول و سمی، به خصوص محلول اتیدید بروماید و ژل های حاوی این ماده، می توان از زغال فعال حیوانی (چارکول) استفاده نمود.
- ✓ ژل های حاوی این ماده را می توان به مدت ۲۴ ساعت در ظرف حاوی ۲ لیتر آب قرارداد تا مواد سمی آن وارد فاز آبی گردد.
- ✓ پس از اسکن کردن ژل آگاروز و حصول اطمینان از نبودن ترکیبات آلی در ژل به محلول رقیق شده از ماده سمی یک قاشق چارکول اضافه نموده پس از یک ساعت، محلول سوسپانسیون آن را از یک صافی معمولی عبور دهید. در این صورت محلول زیر صافی که عاری از ماده سمی است را می توان دور ریخت.
- ✓ کاغذ صافی حاوی چارکول و ماده سمی را در کوره لاشه سوز قرار دهید.
- ✓ توجه: این ماده سمی فقط در دمای ۶۵۰ درجه سانتی گراد تجزیه می شود.
- ✓ هنگام کار با ژل از دستکش و ماسک استفاده کنید. اکریل آمید و بیس اکریل آمید نوروتوکسین قوی هستند هر چند بعد از پلی مریزه شدن بی خطر هستند. هیچ گاه ژل را بدون دستکش نگیرید چون احتمال اینکه منومرهای پلی مریزه هنوز در ژل باشند، وجود دارد. محلول ذخیره در دمای ۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ تا ۲ ماه پایدار است.

#### 6- نحوه نگهداری:

- ❖ منبع تغذیه را روی یک سطح صاف و در ارتفاع مناسب قراردادید و در اطراف دستگاه فاصله کافی در نظر گرفته شود تا هوا در گردش بوده و تبادل حرارتی به آسانی صورت پذیرد.
- ❖ در صورت وجود هرگونه مشکل در بدنه تانک و در دستگاه، به هیچ وجه از آن استفاده نکنید.
- ❖ هر فردی که قرار است از دستگاه استفاده کند، باید قبل از هر کاری راهنمای استفاده را به خوبی مطالعه نماید.
- ❖ جهت تمیز کردن دستگاه از آب گرم و دترجنت متوسط استفاده شود. آب با دمای بالاتر از ۶۱ درجه سانتی گراد می تواند به دستگاه صدمه بزند. قسمت ران کننده ژل، باید به دقت با آب گرم شسته شود تا از تجمع نمکها جلوگیری شود اما دقت کنید که به الکترودهای دستگاه صدمه وارد نشود. هیدروکربن های آلیفاتیک، هگزان و مایع ظرفشویی جهت تمیز نمودن دستگاه بسیار مناسب می باشند. بیش تر از ۳۱ دقیقه دستگاه را در دترجنتها قرار ندهید.
- ❖ از بین بردن RNase را می توان به روش زیر انجام داد:
  - ابتدا با استفاده از یک دترجنت معمولی دستگاه را تمیز نمایید سپس با استفاده از هیدروژن پراکسید ۳ درصد به مدت ۱۰ دقیقه دستگاه را بشوئید. سپس دستگاه را با آب DEPC Treated با رقت ۰/۱ درصد شستشو دهید.
  - ❖ دستگاه باید در جای امن و به دور از عوامل مخاطره آمیز قرار گیرد.
  - ❖ در صورت ریختن محلولها روی میز کار بلافاصله خشک گردد.

تهیه کننده: پریسا احقری	تأیید کننده: دکتر رضوان نجفی	تصویب کننده:	تاریخ اجرا:
سمت: کارشناس آزمایشگاه	سمت: مسئول آزمایشگاه	سمت:	تاریخ بازنگری:
تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۲	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۹	تاریخ و امضاء:	شماره صفحه:

بازنگری: ----	کد مدرک: WI- MBL- 2411	عنوان مدرک: دستورالعمل اجرایی دستگاه الکتروفورز <b>Title: Electrophoresis Equipment Working Instruction</b>	 دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی استان گیلان دانشکده پزشکی
------------------	------------------------------	--	---

- ❖ در صورت نوسان ولتاژ دستگاه باید سرویس و عیب‌یابی گردد.
- ❖ بافر تانک را می‌توان ۲ تا ۳ بار استفاده کرد.
- ❖ در صورتی که دستگاه Error داد باید با مراجعه به راهنما درصد رفع مشکل باشید.
- ❖ با استفاده از دستمال کاغذی و یا پارچه نرم دستگاه ژل داک را تمیزنمائید.
- ❖ از تمیز کننده‌های خورنده و یا پارچه‌های زبر جهت تمیزکاری دستگاه استفاده ننمائید.
- ❖ دستگاه را با استفاده از دمای بالا خشک و یا استریل‌نمائید.
- ❖ در صورت بروز هرگونه مشکل در دستگاه ژل داک، حتماً کارشناس آزمایشگاه را مطلع نمائید.
- ❖ قبل از خارج نمودن دستگاه از جریان برق، کلید off دستگاه را فشار دهید.
- ❖ دستگاه را در محل خشک نگه‌داری‌نمائید.
- ❖ در هنگام استفاده، از ثابت و تراز بودن پایه‌های آن اطمینان حاصل شود.
- ❖ به‌هیچ‌وجه از موادی که قابلیت خش‌انداختن روی سطح دستگاه را دارند استفاده نکنید.
- ❖ شرایط محیطی مناسب برای نصب دستگاه ژل داک شامل محیط آزمایشگاهی با ایمنی زیستی، ولتاژ ۲۲۰ برق شهری و فضای کافی با ابعاد ۵۰\*۴۰\*۵۵ سانتی‌متر (طول\*عرض\*ارتفاع) می‌باشد.

تاریخ اجرا:	تصویب کننده:	تأیید کننده: دکتر رضوان نجفی	تهیه کننده: پریسا احقری
تاریخ بازنگری:	سمت:	سمت: مسئول آزمایشگاه	سمت: کارشناس آزمایشگاه
شماره صفحه:	تاریخ و امضاء:	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۹	تاریخ و امضاء: ۱۴۰۴/۳/۱۲