# Blotting Techniques

أ.د فوزة منعم

تقانة حيوية | نظري

كيفكن ياحلوين ، بوصولكم لهي المحاضرة بتكونوا قطعتوا شوط كبير كتير .. برافووو

رح نكمل برحلتنا بمحاضرات صغيرة وبسيطة .. اليوم فكرة جديدة علينا وغريبة شوي ..يللا نبلّش

## فهرس المحاضرة :

5 • التلطيخ الجنوبي

11 • التلطيخ الشمالي

## مقدمة عامة في طرق التلطيخ

- بدايةً أشارت الدكتورة إلى تعريب تسمية هذه التقنية إلى التلطيخ الشمالي والجنوبي هو تعريب خاطئ جداً لأن التسمية بالإنكليزية اشتقت نسبة إلى مكتشف هذه التقنية وهو البروفيسور إدوين ساذرن Edwin Southern فهي اسم علم غير قابل للترجمة ومن ثم نسبت إليه التقنيات التي اكتشفت فيما بعد مثل Northern ، Western ... تكريماً له.

- والكلام السابق صحيح ولكن في الوقت ذاته فإنّ البحث على الانترنت يُظهر أنّ التعريب المذكور آنفاً متعارف عليه وموجود في العديد من المواقع الطبية لأنه حتى في الإنكليزية فإن تسميات .... Northern, Western المنسوبة كما ذكرنا إلى التسمية Southern جاءت نتيجة للتشابه بين اسم البروفيسور وبين معنى الكلمة "الجنوبي" ولم تأخذ أسماء الباحثين الذين اكتشفوها.

- لاحظ أن العنوان يشير إلى أنّ التقنية هي تقنية كشف وتحليل Analyzing لا تنقية Purification بمعنى أن هذه التقنية تتم على عينة فقط لتكشف فيما إذا كانت الجينة المرغوبة موجودة أم لا، ولا تستطيع هذه التقنية فصل الجينات عن بعضها وإنما ستخضع هذه الجينات جميعاً للعمليات اللاحقة مما يحتم علينا ضرورة إيجاد طرائق للتحليل فيما بعد.

- إنّ إجمالي الـDNA الخلوي لكائن حي ما (الـDNA الجينومي) أو المحتوى الخلوي من الـRNA جميعها عبارة عن مزائج من النكليوتيدات مختلفة التسلسل.

- حيث يؤدي شطر الـDNA الكلي باستخدام أحد أنزيمات الاقتطاع كما ذكرنا في المحاضرة السابقة إلى تشكيل ملايين من الشدف المقتطعة Restriction fragments يمكن التعامل معها.

- ويمكن لبعض هذه الشدف أن يكون لها نفس القياسات تماماً (أي نفس العدد من أزواج الأسس) مما يجعل فصلها عن بعضها بالرحلان الكهربائي[1] أمراً متعذراً.

- لهذا السبب تم إيجاد تقنيات تهدف إلى تحديد أو تمييز التسلسل الهدف بدقة في هذه الأمزجة المعقدة من الحموض النووية وهي:

- التلطيخ الجنوبي Southern blotting: الذي يستخدم لفصل مزائج الـDNA.
- التلطيخ الشمالي Northern blotting: الذي يستخدم لفصل مزائج الـRNA.

- ويجب ألا يتم الخلط بين هاتين التقنيتين وبين تقنية التلطيخ الغربي Western blotting المستخدمة لتحليل البروتينات، والتي يتم فيها تثبيت البروتينات على مراشح من النتروسيللوز أو النايلون.

- حيث يتم أولاً (في التلطيخ الغربي) فصل البروتينات عن بعضها بترحيلها كهربائياً على هلامة البولي أكريل أميد Polyacrylamide Gel PAGE (Electrophoresis)، ومن ثم تلطخ أو تنقل (قطع البروتينات المفصولة (البقع أو العصابات) إلى المراشح المذكورة، وبعد ذلك يتم وسم المراشح بأضداد نوعية Antibodies للكشف عن البروتين المرغوب Antigen،

[1] تذكرة بالرحلان الكهربائي: يتم تطبيق العينة على هلامة ويستخدم الحقل الكهربائي لترحيل مكونات العينة فتنفصل العصابات حسب الحجم والشحنة.

وهي طريقة مستخدمة لمسح مكتبات التعبير الجيني Expression library screening.

تلخيص:
ترحيل كهربائي >> ننقل العصابات إلى مرشحة >> وسمها بأضداد نوعية.

تقنية التلطيخ الجنوبي وهي الطريقة الأكثر شيوعاً للكشف أو التحري عن شدف من الـDNA والتي تكون متممة لتتال معلوم يدعى "المسبار Probe" (وهذا المسبار يمكن أن يكون تتالي من الـDNA أو الـRNA)، فنحصل بذلك على تهجين الـDNA.

أحد فوائد تقنية تهجين الـDNA (DNA hybridization) أنها تسمح لنا بالمقارنة بين جينوم كائن ما وبين جينة معينة أو شدفة من هذه الجينة، بمعنى أنها تستطيع أن تنبئنا فيما إذا كان هذا الكائن حاو على الجينة التي نبحث عنها، كما ويعطينا معلومات عن تموضع وتوجّه Organization هذه الجينة بالإضافة إلى خريطة الاقتطاع الخاصة بها.

# التلطيخ الجنوبي Southern blotting

تتلخص خطواتها فيما يلي:

١) يتم عزل الـDNA الكروموزومي من الكائن موضع الاهتمام of interest.

٢) يتم حلمهة أو هضم الـDNA بالكامل بوساطة أنزيمات الاقتطاع الداخلية.

٣) يتم فصل الأجزاء الناتجة عن التقطيع عن بعضها البعض بتقنية الرحلان الكهربائي على هلامة الأغاروز حيث تنفصل هذه الشدف عن بعضها تبعاً لقياسها.

٤) بعدها تمسّخ شدف الـDNA ثنائية الطاق التي تمّ ترحيلها على الهلامة باستخدام محلول قلوي[٢] Alkaline solution (أي يتم فصلها إلى سلاسل وحيدة الطاق Single strands) حتى تستطيع المسابير الارتباط بها فيما بعد.

٥) الخطوة التالية تتضمن نقل شدف الـDNA من الهلامة إلى ورقة ترشيح النتروسيللوز Nitrocellulose filter أو غشاء النايلون Nylon membrane وهذه الخطوة هي عملية التلطيخ Blotting.

ويمكن أن يتم ذلك بطريقتين:

[٢] تعالج بطريقة تبقي الـDNA متمسخاً ضمن الهلامة حتى بعد إزالة المحلول القلوي.

👍 يمكن أن يتم نقل هذه الشدف كهربائياً Electro transfer:
أي باستخدام حقل كهربائي يجذب هذه الشدف ويؤدي إلى نقلها من الهلامة إلى مرشحة النتروسيللوز.

✌ أو من خلال الخاصية الشعرية البسيطة Simple capillary action:
حيث يتم في هذه الحالة وضع الهلامة الحاوية على سلاسل الـDNA المتمسّخة على بضعة أوراق ترشيح تكون مغموسة في محلول الوقاء[٣] ومن ثم يوضع غشاء النتروسيللوز فوق الهلامة كما يوضع فوق الغشاء أيضاً مجموعة من أوراق الترشيح الجافة.

يتحرّك الوقاء بفعل الخاصية الشعرية مجذوباً بوساطة أوراق الترشيح الجافة الموجودة أعلى الهلامة وحاملاً معه سلاسل الـDNA مفردة الطاق وعندما تصل هذه السلاسل إلى مرشحة النتروسيللوز فإنها ترتبط معه في الموقع ذاته الذي وصلت إليه عندما تمّ فصلها بالرحلان الكهربائي على الهلام (أي إذا قطعت شدفة ما 5 سم على الهلامة ستكون قاطعة نفس المسافة على غشاء النتروسيللوز).

**٦) بعد ذلك يجب أن تثبت سلاسل الـDNA مفردة الطاق على غشاء النتروسيللوز ويجعل ارتباطها غير عكوس Irreversibly:**

👍 إما بتعريضها إلى درجات حرارة عالية (خبز) Baking
(في حالة استخدام غشاء النتروسيللوز).

✌ أو تشكيل روابط تصالبيّة Cross-linking
من خلال تعريضها لأشعة الـUV (في حال استخدم غشاء النايلون لأنه لا يتحمل الحرارة).

[٣] أي لا يتم غمس الهلامة مباشرة في محلول الوقاء وإنما تكون مرفوعة فوق أوراق الترشيح في مستوى أعلى من مستوى سائل الوقاء.

٧) ثم يغمر الغشاء بمحلول يحوي المسبار Probe الذي قد يكون إمّا:

- نسيلة cDNA (cDNA: Complementary DNA Clone).
- شدفة من الجينوم Genomic Fragment
- عديد نكليوتيد Oligonucleotides
- مسبار RNA Probe RNA

والمشترك بين جميع هذه المسابير أنها يجب أن تكون متممة أولاً للتسلسل المطلوب وموسومة ثانياً.

وبالتالي يحدث تهجين بين تسلسل DNA الهدف وبين المسبار الذي نستخدمه لوجود تسلسلات متتامة بينهما مما يمكّن من ربطهما ببعضهما البعض، فيتشكل هجين DNA/DNA أو DNA/RNA لذلك سمّيت هذه التقنية تهجين الـDNA (DNA hybridization).

عادة ما يكون المسبار المستعمل موسوماً بعنصر مشعّ Radioactive والذي يكون غالباً الفوسفور المشع $P^{32}$ والذي يصدر جسيمات β (High Energy Beta Particles) وذلك من خلال إزالة مجموعة الفوسفات الموجودة على النهاية '٥ للمسبار باستخدام أنزيم الفوسفاتاز القلوي Alkaline phosphatase واستبدالها بمجموعة فوسفات مشعة باستخدام أنزيم Polynucleotide kinase وبالاستعانة بـ [ATP] $\gamma$-$P^{32}$.

٨) تغسل المرشحة أو الغشاء بعد ذلك لإزالة المسابير غير المرتبطة بشكل نوعي. مع الأخذ بعين الاعتبار Stringency (قوة الارتباط)، فكما نعلم أن الارتباط بين G و C يتم بثلاث روابط هيدروجينية أما A و T برابطتين فقط، وبالتالي الارتباط C،G أقوى، وكلما زادت هذه الروابط بين قطع الـ DNA والمسبار زادت قوة الارتباط وصعب فكها عن بعضها في حال كان الارتباط غير نوعي.

ملاحظة:

نهتم بال Stringency أيضاً في تفاعلات ال PCR حيث كلما كان محتوى ال DNA من G،C أكثر فنحتاج درجات حرارة أعلى لفك الارتباط.

تسمى الأجزاء الحاوية على G,C بـ C-G Islands

**٩) الخطوة الأخيرة تتمثل بتظهير المسابير المرتبطة من خلال فيلم أشعة X (X-ray film) بعملية تدعى تصوير الإشعاع الذاتي** Autoradiography.

في هذه العملية يتم فقط وضع مراشح النتروسيللوز التي ارتبطت عليها المسابير في صناديق مغلقة حاوية على فيلم أشعة X فتؤدي الإشعاعات الصادرة عن المسابير إلى اسوداد هذا الفيلم في المنطقة التي صدرت منها الإشعاع (أي كأننا أخذنا صورة أو طبعة من الغشاء للعناصر المشعة فقط) ومن خلال تحليل هذا الفيلم (الصورة الشعاعية) يمكننا التحري عن عدد وحجم شدف الجينات التي تشابه إلى حد كبير جداً شدف الجينات التي استخدمت كمسبار.

❖ **هناك عاملين يتحكمان بالخلية:**

- **التتام:**

  **يمكن التغاضي عن عدم التتام الكامل بشرط أن تكون شدة الترابط قوية** Stringency **(روابط** C,G **أكثر من** A,T).

- **القوة.**

## بماذا يمكن للتلطيخ الجنوبي أن يخبرنا؟

## What southern blotting can tell us?

١) يخبرنا فيما إذا كان هناك جينة معينة موجودة في العينة المحللة أم لا، بالإضافة إلى عدد النسخ الموجودة منها.

٢) درجة التشابه ما بين الجينة الموجودة على الكروموزوم وتتالي المسبار.

المسبار المثالي هو الذي يرتبط بتتالي الـ DNA بنسبة ١٠٠٪ Full Matching ولكن من الممكن استخدام مسابير ترتبط بشكل جزئي بالجينة أي تترك بضع النكليوتيدات ولا ترتبط بها.

٣) يخبرنا فيما إذا كان هناك مواقع تعرف لأنزيمات اقتطاع معينة موجودة في هذه الجينة وإذا أجرينا الحلمهة بأنزيم اقتطاع مختلف في كل مرة أو استخدمنا توليفة منها يمكننا الحصول على ما نسميه خريطة الاقتطاع Restriction map للجينة، وبالتالي تعطينا فكرة عن مواقع الاقتطاع الموجودة حول الجينة والتي ستساعدنا في عملية التنسيل Cloning.

٤) يمكننا معرفة فيما إذا كان موقع اقتطاع الأنزيم المستخدم موجود ضمن الجينة أم لا من خلال حجم القطع التي تم ارتباط المسبار المشع معها، فإذا كانت هذه القطع طويلة وقريبة من طول الجينة موضع الاهتمام فذلك يعني عدم وجود موقع اقتطاع فيها والعكس صحيح.

٥) يعطينا معلومات فيما إذا حصلت عمليات إعادة ترتيب Re-arrangements خلال عملية التنسيل Cloning (أي إعادة ترتيب للـ Promoter، والـ Enhancer والـ Silencer...). لذلك يتم العمل بهذه التقنية أثناء عملية التنسيل للتأكد من سلامة الجينة.

## Southern blot:

يستخدم التلطيخ الجنوبي لتأكيد وجود أو غياب Presence or absence تسلسلات نوعية من النكليوتيدات في الـ DNA المعزول من مصادر مختلفة، بالإضافة إلى تحديد قياسات شدف الاقتطاع Restriction fragments الحاوية على هذا التسلسل.

في هذه العملية يتم عزل الـ DNA من مصادر مختلفة ومن ثم تعريضه للحلمهة بأنزيمات اقتطاع معينة.

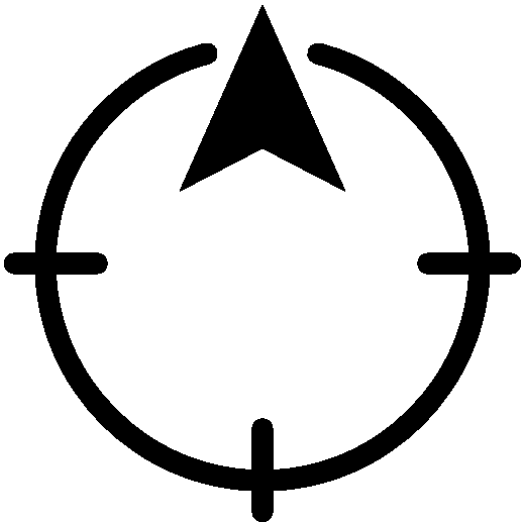
يتم تحميل Loading شدف الاقتطاع الناتجة على هلامة الآغاروز وتفصل هذا الشدف بالرحلان الكهربائي تبعاً لقياسها حيث تهاجر الجزيئات الأقصر بسرعة أكبر من الجزيئات الأطول.

ومن ثم تظهر شدف الـ DNA المفصولة بمادة الإيتيديوم بروماید Ethidium bromide، وغالباً ما تنقل هذه السلاسل فيما بعد من الهلامة إلى مرشحة من النايلون.

بعد ذلك يضاف مسبار الحمض النووي الموسوم شعاعياً Radioactively labeled nucleic acid probe، حيث يرتبط هذا المسبار إلى القسم المتمم له على الـ DNA، لاحظ أن شدفة الـ DNA الموسومة غير موجودة لدى الكائن B.

ولكشف موقع ارتباط المسبار الموسوم شعاعياً يتم تغطية مرشحة النايلون بفيلم أشعة X مما يجعل مواقع ارتباط المسبار ظاهرة عيانياً.

## التلطيخ الشمالي Northern blotting



- التلطيخ الشمالي ليس تقنية جديدة وإنما هو امتداد بسيط للتقنية التي أتت قبله وهي التلطيخ الجنوبي لذلك سمي بهذا الاسم وهو يستخدم للكشف عن الـ RNA الخلوي بدلاً من الـ DNA.
- حيث كان يعتقد سابقاً أن الـ RNA غير قادر على الارتباط إلى غشاء النتروسيللوز بكفاءة Efficiently، لذا فقد تم تصنيع بعض المواد الصنعية بدلاً من النتروسيللوز.
- لكن فيما بعد استنتج أنه يمكن للـ RNA عندما يتمسخ when denatured أنه يرتبط أيضاً بكفاءة إلى غشاء النتروسيللوز، وهذا يعني أنه يجب أن يتم فك تطوي Unfold جزيئة الـ RNA إلى سلسلة خطية قبل أن ترتبط بشكل جيد إلى النتروسيللوز (وسنجد كيف يتم ذلك فيما بعد).

## خطوات التلطيخ الشمالي (تشبه خطوات التلطيخ الجنوبي):

### ١. استخلاص الـ RNA:

- يستخلص الـ RNA من الخلايا موضع الاهتمام كما في حالة الـ DNA تماماً، مع الانتباه إلى أخذ احتياطات جيدة لتجنب تخرب RNA وحيد الطاق والحفاظ على كينونته Integrity بوساطة أنزيمات الريبونوكلياز (RNase) والتي تتواجد بشكل طبيعي على الجلد والأدوات الزجاجية.

- لذلك يجب أثناء استخلاص الـ RNA ارتداء قفازات، واستخدام أدوات زجاجية أو بلاستيكية معالجة بشكل خاص لمنع التلوث العرضي Accidental للخلاصة الحاوية على الـ RNA بأنزيم الريبونوكلياز، ويمكننا أن نحقق ذلك بطريقتين:

- إما إضافة مركب دي إيتيل بيروكاربونات DEPK Diethylpyrocarbonate الذي يثبط فعالية أنزيم الريبونوكلياز.

- أو تعريض الأدوات لدرجات حرارة عالية من أجل تخريب هذا الأنزيم (وهذه الطريقة مناسبة فقط للأدوات المتحملة للحرارة كالأدوات الزجاجية).

تذكر أنه يجب المحافظة على سلامة Integrity جزيئات الـ RNA طيلة مدة العمل، وهذا ما يجعل تحاليل تشخيص الفيروسات التي تعتمد على كشف الجينوم أكثر كلفة عندما يكون جينوم الفيروس هو RNA مقارنة بالفيروسات التي تكون المادة الوراثية فيها على شكل DNA لأن جميع الأدوات والقفازات المستخدمة يجب أن تكون RNase free، وذلك منعاً من الحصول على نتيجة سلبية كاذبة False negative.

## ٢. تمسيخ جزيئات الـ RNA:

- أول خطوة في التلطيخ الشمالي بعد الاستخلاص هي التمسيخ حيث يمكن استخدام مواد كيميائية لتمسيخ الـ RNA مثل الفورمالدهيد Formaldehyde وهيدروكسيد ميتيل الزئبق Methyl mercuric hydroxide، والتمسخ هنا ليس لفصل الطاقين عن بعضهما كما في حالة الـ DNA لأن الـ RNA يتواجد أساساً بشكل وحيد الطاق وإنما لشطر أو فصل الروابط الهيدروجينية التي تتشكل ضمن السلسلة نفسها، أي فك تطوي Unfold RNA.

- مع الإشارة إلى أنه لا يمكن استخدام الوسط القلوي لتمسيخ الـ RNA كما في حالة الـ DNA لأن الـ RNA يتخرب في مثل هذه الشروط.

**٣. فصل جزيئات الـ RNA عن بعضها:**

بالرحلان الكهربائي على الهلام.

**٤. اجراء عملية تلطيخ للهلامة:**

على ورقة النتروسيللوز حيث ينتقل الـ RNA بالخاصية الشعرية إلى الغشاء.

**٥. وسم الجزيئات المرغوبة من الـ RNA:**

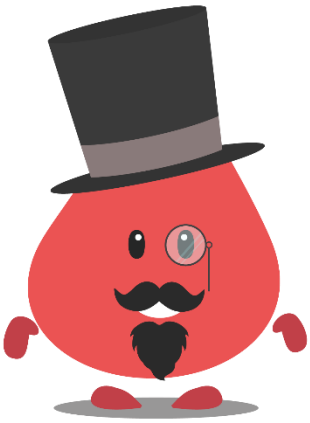
باستخدام مسابير معينة وغالباً ما تكون المسابير المستخدمة لتظهير لطاخات الـ RNA إما:

- شدف cDNA: وهي شدف مضاعفة الطاق تم تمسيخها Denaturation للحصول على طاق وحيد يستطيع الارتباط بقطع RNA عند التهجين .
- أو مسبار وحيد الطاق Single stranded: مثل قليلات النكليوتيد Oligonucleotide أو جزيئة RNA منتسخة Transcribed RNA.

وتأكد أن المسبار المستخدم متمم Complementary لتسلسل الـRNA الناتج عن الجينة التي تبحث عنها of interest.

**٦. وأخيراً يتم الكشف عن الإشعاعات الصادرة عن المسابير:**

بتقنية تصوير الإشعاع الذاتي Autoradiography.



## بماذا يمكن للتلطيخ الشمالي أن يخبرنا؟

## What Northern blotting can tell us?

**١) يعطي أنماط التعبير التفريقي Expression Patterns لجينة معينة، في أي نسيج يتم التعبير عنها (فمثلاً جينة الأنسولين موجودة في كل خلايا الإنسان ولكن أكثر ما يعبر عنها في خلايا جزر لانغرهانس في البنكرياس لذلك نبحث عن mRNA في هذه الخلايا).**

إذا كان يعبر عنها أثناء مراحل محددة من تطور الخلية (وهذا ما يسمى بحركية التعبير عن الجينة، فأحياناً يعبّر عنها وأحياناً لا يعبر عنها وأحياناً يعبر عنها بكميات قليلة..)، فمثلاً الكورتيزول اعلى إفراز له يكون صباحاً لذلك نجد أن mRNA المسؤول عن تصنيع الكورتيزول يكون بأعلى كمية له صباحاً مقارنة بباقي أوقات اليوم.

إذا كان التعبير عنها يتغير تحت ظروف مختلفة أو تحت معاملات خاصة للخلية.

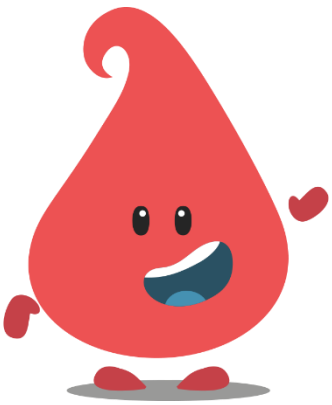
**وهذه النقطة ميزة هامة جداً لهذه التقنية، لأن العلم اتجه حالياً من دراسة الـ Genome إلى دراسة الـ Transcriptome بمعنى آخر أنه لم يعد مهماً كشف الجينة بحد ذاتها بقدر ما يهم إذا كانت هذه الجينة يعبّر عنها أم لا.**

ففي وقت سابق كانت شركات التأمين الصحي أو بعض شركات التوظيف ترفض الأشخاص الذي يجدون في تحليل الجينوم لديهم أنهم حاملين لمورثات مولدة للأورام Oncogene أو تلك المؤهبة لحدوث أمراض معينة (كمرض السكري أو اضطرابات الشحوم ...) تجنباً لدفع التكاليف الباهظة المتطلبة لعلاج هؤلاء الأشخاص إن ظهر لديهم الورم لاحقاً والانعكاسات السلبية لهذا الأمر على الشركة.

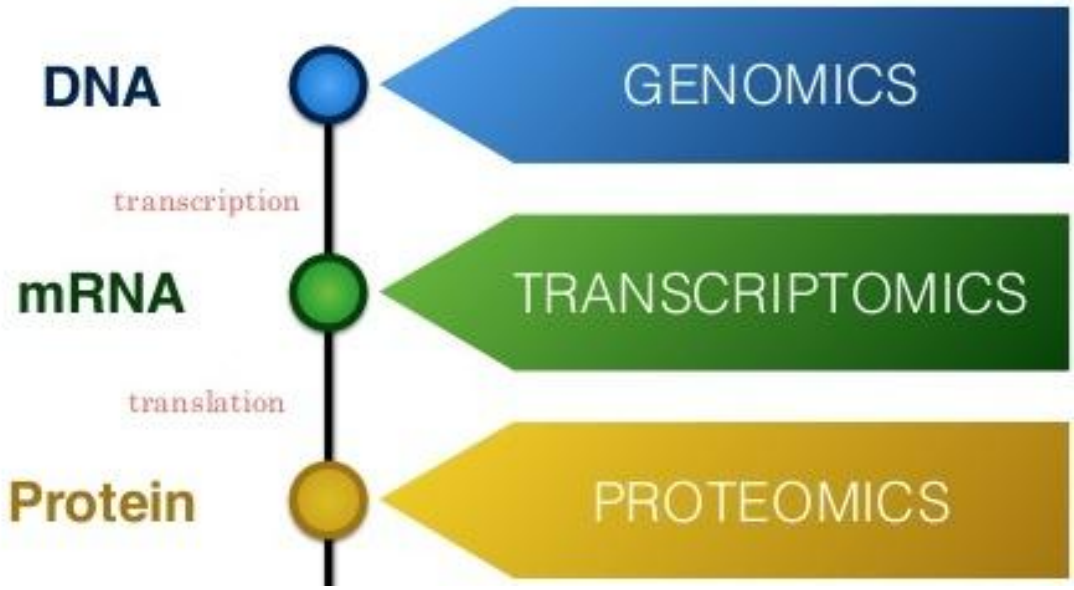
إلا أن هذا التقييم لم يكن عادلاً بالنسبة للكثيرين الذي رغم أنهم يحملون هذه الجينات إلا أنها صامتة ولا يعبّر عنها (قد تفتقد لـ Promoter أو Enhancer) فهي لا تشكّل أي خطر على توليد الأورام من حيث وجودها طالما لم تنتسخ ولم تترجم إلى بروتين، لذلك تم رفع دعوى وقررت الشركات بعدها الاعتماد على دراسة Transcriptome أي نتائج انتساخ DNA (نقصد بشكل رئيسي mRNA) وبذلك مثل هؤلاء الأشخاص لن يتواجد لديهم mRNA للجينة المعينة، أما إذا وجد mRNA الناتج كل هذه الجينة فإن ذلك مؤشر واضح على خطر هذه الجينات في توليد الأورام وبالتالي يحق للشركة الرفض عندئذ للأسباب السابقة.

ملاحظة:

في بعض الحالات حتى ولو انتسخت الجينة وحصلنا على mRNA من الممكن ألا تتم ترجمته (عمره قصير مثلاً، تخربه...) لذلك ظهر ما يسمى علم Proteomics والذي يهتم بدراسة وتقصي البروتينات الناتجة عن انتساخ وترجمة DNA، لذلك حالياً كل الأمراض التي يتم تشخيصها بالاعتماد على دراسة Proteomic (أي البروتينات الناتجة في النهاية عن الجينات).



It might look like I'm doing Nothing, but at the cellular level I'm really quite Busy.



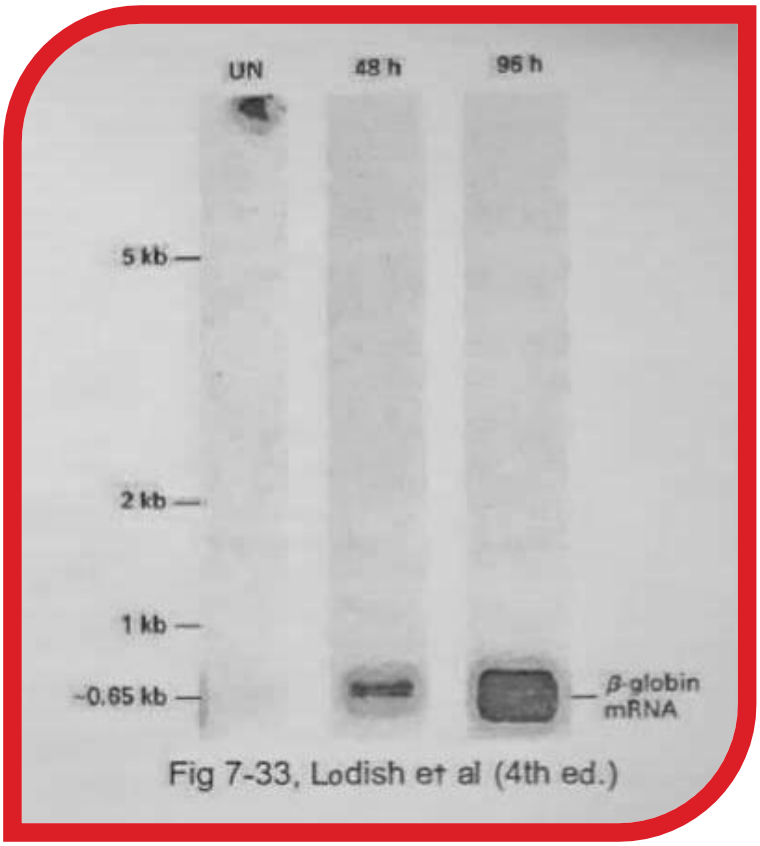

٢) يعطي كمية الـ mRNA الموجودة (تحليل كمي Qualification):

حيث يمكن عدّ اللطاخات بعد الوسم الشعاعي Radioactive Counting بجهاز يدعى Scintillation Counter والذي يعطي كمية الإشعاع الناتجة عن كل لطاخة.

٣) معرفة فيما إذا كان للواسم الجينومي DNA مناطق قابلة للانتساخ، (بمعنى هل هذا المسبار يمثّل جينة أم تسلسل غير فعال من الـ DNA).

## المثال التالي يوضح لطاخات شمالية على فيلم أشعة X:

يوضح الشكل دراسة لطاخة شمالية لمزارع خلوية حاوية على خلايا ابيضاضية Leukemia تم استخلاص الـ RNA منها في عدة مراحل: الأولى عند عزل هذه الخلايا وعدم معالجتها بأية مادة (UN) Untreated cells، والمرحلتان الثانية والثالثة بعد مدة زمنية معينة من إضافة مادة تحرّض على التمايز في الوسط الزرعي موضحة على الشكل:




وبما أن خلايا الورم الابيضاضي غير متمايزة نلاحظ غياب نسبي للـ mRNA المرمز لبروتين B-globin في الخلايا غير المعالجة UN، لأنه بروتين يعبّر عنه في الخلايا المتمايزة فقط في حين نلاحظ أنه يعبر عنه بشكل واضح في الخلايا الابيضاضية التي تم تحريضها على التمايز.

## كلا طريقتي التلطيخ الشمالي والجنوبي على درجة عالية من الحساسية

## Both Sothern & Northern are exquisitely sensitive

حيث يمكن لكلا التقنيتين أن تكشفا كميات ضئيلة جداً من الحموض النووية، إضافة إلى أنّ لطاخات الـ DNA والـ RNA المستخلصة من كائنات مختلفة تعطينا فكرة عن الجينات التي تم الحفاظ عليها Conservation بين الأنواع المختلفة (أي تأثير التطور على حذف جينات معينة والإبقاء على جينات أخرى بين الأنواع المختلفة).

❖ وعرضت الدكتورة الجدول التالي الذي يوضح الفروقات بين الأنواع المختلفة من التلطيخ:

| التقنية | التلطيخ الجنوبي Southern Blot | التلطيخ الشمالي Northern Blot | التلطيخ الغربي Western Blot |
|---|---|---|---|
| نوع الجزيئات التي تجري عليها | DNA | RNA | Proteins |
| الهلامة التي تستخدم في الرحلان | الآغاروز أو البولي أكريل أميد | الأغاروز | البولي أكريل أميد |
| شطر العينة بأنزيمات الاقتطاع | تستخدم | لا تستخدم | لا تستخدم |
| تمسيخ العينة بالفورم ألدهيد | لا يستخدم | تستخدم | لا يستخدم |
| آلية نقل العينة من الهلامة إلى الغشاء | الخاصية الشعرية | الخاصية الشعرية | الحقل الكهربائي |
| المسابير المستخدمة | Radioactive RNA Probe or ssDNA | Radioactive RNA Probe or ssDNA | Radioactive or Flurecent Antibody |

## أضف ملاحظاتك :

# RBCs' Quote

"إن الثمرة إذا نضجت فارقت

شجرتها" - أحمد أمين -

لإرسال ملاحظاتكم:
goo.gl/forms/Hl8slZEmLSZvySq92

لتحميل محاضراتنا:
www.Rbcsteam.org/lectures

للاستفسار عن هذه المحاضرة على غروب الفريق على الفيس بوك:
RBCs Pharmacy 2019 www.facebook.com/groups/rbcs2019