ژل داک(Gel Documentation System)

ژل داک یا سیستم مستندسازی ژل، دستگاهی است که برای ثبت تصاویر از ژل‌های الکتروفورز و آنالیز آنها استفاده می‌شود. این دستگاه با استفاده از نور UV یا نور سفید، باندهایDNA ، RNAیا پروتئین را که با مواد فلورسنت (مانند اتیدیوم بروماید) رنگ‌آمیزی شده‌اند، به تصویر می‌کشد و سپس با نرم‌افزار مخصوص، آنالیزهای کمی و کیفی روی آنها انجام می‌دهد.

۱. هدف و کاربرد(Purpose and Applications)

ژل داک برای ثبت و آنالیز تصاویر ژل‌های الکتروفورز طراحی شده است. پس از اجرای الکتروفورز و رنگ‌آمیزی ژل، باندهای DNAیا پروتئین قابل مشاهده می‌شوند و دستگاه با استفاده از دوربین حساس، تصویری دیجیتال از آنها ثبت می‌کند.

کاربردهای اصلی در آزمایشگاه:

زمینه	کاربرد
ژل‌های آگارز(DNA/RNA)	تعیین اندازه قطعاتDNA ، تأیید موفقیتPCR ، بررسی کیفیت استخراجDNA
ژل‌های پلی‌اکریل آمید (پروتئین)	بررسی خلوص پروتئین، تعیین وزن مولکولی، آنالیز وسترن بلات
آنالیز کمی	تعیین غلظت نسبی DNA یا پروتئین در نمونه‌ها
مستندسازی	ثبت دائمی نتایج برای گزارش‌ها و مقالات

مواد فلورسنت رایج :اتیدیوم بروماید (EtBr) برایDNA ، SYBR Safe، GelRed، کوماسی بلو برای پروتئین‌ها.

۲. اجزای اصلی دستگاه(Components)

بر اساس مستندات دستگاه‌های: Bio-Rad

جزء	توضیح و عملکرد
محفظه(Hood)	محفظه ایزوله و تیره که از نفوذ نور محیط جلوگیری می‌کند. درب آن دارای قفل ایمنی برای محافظت در برابر UV است.
منبع نورUV	صفحه ترانس‌ایلومیناتور که ژل روی آن قرار می‌گیرد. نور UV (302 nm یا ۳۶۵ (nm باعث فلورسانس مواد متصل به DNA می‌شود.
منبع نور سفید (White Light)	برای ژل‌های پروتئینی رنگ‌آمیزی شده با کوماسی بلو و سایر رنگ‌های قابل مشاهده با نور معمولی.
دوربین (CCD Camera)	دوربین با حساسیت بالا که تصویر فلورسانس ژل را ثبت می‌کند. قابل تنظیم از نظر زوم، فوکوس و دیافراگم.
فیلتر(Filter)	فیلترهای نوری مناسب) مانند فیلتر استاندارد ۵۹۰ nm برای (EtBr که فقط طول موج فلورسانس را عبور می‌دهند.
سینی نمونه (Sample Tray)	سینی‌های شیشه‌ای یا پلاستیکی که ژل روی آنها قرار می‌گیرد. انواع مختلف برای کاربردهای متفاوت. (UV Tray, White Tray, Blue Tray, Stain-Free Tray)
نرم‌افزار(Software)	نرم‌افزاری مانند Image Lab یا Quantity One برای کنترل دستگاه، ثبت تصویر و آنالیز باندها.
پرینتر حرارتی (Video Printer)	)اختیاری) برای چاپ سریع تصاویر.

۳. روش کار گام به گام(Step-by-Step Procedure)

این روش بر اساسSOP های استاندارد دانشگاه‌ها تهیه شده است.

مرحله ۰: نکات ایمنی – بسیار حیاتی

خطر	نکته ایمنی
اتیدیوم بروماید(EtBr)	ماده جهش‌زاست – حتماً دستکش و روپوش بپوشید. از دست زدن به ژل بدون دستکش خودداری کنید.
نورUV	به چشم و پوست آسیب می‌زند – هرگز بدون محافظ به نور UV نگاه نکنید. از ماسک/عینک محافظ UV استفاده کنید.
تکنیک یک دستکش (One-Glove Technique)	برای جلوگیری از آلودگی صفحه کلید و موس به ژل: -دستکش را از دست غالب خود درآورید. -با دست بدون دستکش، درها، کامپیوتر و دستگاه را لمس کنید. -با دست دستکش‌دار، ژل را حمل و در دستگاه قرار دهید.

مرحله ۱: آماده‌سازی و قرار دادن ژل

۱. ژل رنگ‌آمیزی شده را با دستکش از بافر خارج کنید.
۲. ژل را به آرامی روی سینی شیشه‌ای مرکز قرار دهید (اطمینان از نبود حباب هوا بین ژل و شیشه).
۳. با دست بدون دستکش، درب محفظه را باز کنید.
۴. سینی حاوی ژل را در مرکز صفحه UV قرار دهید.
۵. درب محفظه را ببندید.

📸مرحله ۲: راه‌اندازی نرم‌افزار و دوربین

۱. کامپیوتر را روشن کرده و نرم‌افزار Image Lab) یا (Quantity One را اجرا کنید.
۲. با دست بدون دستکش، موس و صفحه کلید را کنترل کنید.
۳. در نرم‌افزار، گزینه **Live/Focus** را فعال کنید تا تصویر زنده از ژل ببینید.
۴. با استفاده از کنترل‌های نرم‌افزار (یا دستی روی دوربین)، تنظیمات زیر را انجام دهید:

- **Zoom:**بزرگنمایی کنید تا ژل کل کادر را پر کند.
- **Focus:**تصویر را کاملاً شارپ کنید.
- **Iris/Aperture:**مقدار نور ورودی به دوربین را تنظیم کنید (بازتر = روشن‌تر).

۵. منبع نور مناسب را روشن کنید:

- **UV Trans:**برای ژل‌های EtBr یا.(DNA) SYBR Safe
- **White Light:**برای ژل‌های پروتئینی کوماسی بلو.

📸مرحله ۳: تنظیم نوردهی (Exposure) و ثبت تصویر

۱. روی دکمه **Auto Expose** کلیک کنید تا نرم‌افزار زمان نوردهی مناسب را تخمین بزند.
۲. تصویر را بررسی کنید:
   - اگر خیلی روشن (باندها اشباع شده، قرمز رنگ): زمان نوردهی را کاهش دهید.
   - اگر خیلی تاریک است: زمان نوردهی را افزایش دهید.
۳. برای تنظیم دستی، گزینه **Manual Expose** را انتخاب کنید و عدد زمان (بر حسب ثانیه) را تغییر دهید.
۴. از نوار وضعیت **Exposure Status** برای پیگیری پیشرفت نوردهی استفاده کنید.
۵. پس از رضایت از کیفیت تصویر، دکمه **Freeze** را بزنید تا نوردهی متوقف شود و تصویر نهایی ثابت شود.

🎨مرحله ۴: ویرایش و ذخیره تصویر (اختیاری)

۱. با استفاده از ابزارهای**Display** ، کیفیت ظاهری تصویر را تنظیم کنید:
   - **Auto-scale:**تنظیم خودکار کنتراست.
   - **High/Low Sliders:**تنظیم دستی روشنایی و کنتراست) کشیدن High به چپ = پررنگ‌تر کردن باندهای ضعیف؛ Low به راست = کاهش نویز پس‌زمینه. (
   - **Gamma:**تنظیم غیرخطی کنتراست.
   - **Invert Display:**تبدیل باندهای روشن در زمینه تاریک به باندهای تیره در زمینه روشن.
   - **Highlight Saturated Pixels:**نمایش پیکسل‌های اشباع شده به رنگ قرمز.
۲. روی دکمه **Save** کلیک کنید.
۳. نام فایل و مسیر ذخیره‌سازی را انتخاب کرده و **Save** را بزنید.
۴. تصویر را می‌توانید به صورت) TIFF برای آنالیز پیشرفته) یا) JPEG برای گزارش) ذخیره کنید.

🖨مرحله ۵: چاپ (اختیاری)

۱. اگر از پرینتر حرارتی استفاده می‌کنید، روی **Video Print** کلیک کنید.
۲. در صورت نیاز، در پنجره **Options** می‌توانید اطلاعات اضافی (نام فایل، تاریخ، زمان نوردهی) را به پایین پرینت اضافه کنید.
۳. روی **OK** کلیک کنید تا چاپ شود.

□مرحله ۶: خاموش کردن و تمیزکاری

۱. منبع UV یا White Light را خاموش کنید.
۲. با دست دستکش‌دار، درب محفظه را باز کنید و ژل را خارج کنید.

۳. با دست دستکش‌دار و دستمال کیموپ (فقط کیموپ – از دستمال کاغذی معمولی استفاده نکنید، شیشه را خط می‌اندازد)، سطح شیشه را تمیز کنید.
۴. درب محفظه را ببندید.
۵. نرم‌افزار را ببندید و کامپیوتر را خاموش کنید.
۶. ژل را در ظرف زباله شیمیایی) مخصوص (EtBr بیندازید.
۷. لاگ‌بوک را با دست بدون دستکش پر کنید.

۴. آنالیز تصاویر(Image Analysis)

پس از ذخیره تصویر، نرم‌افزار Image Lab ابزارهای قدرتمندی برای آنالیز کمی و کیفی دارد.

تشخیص خودکار(Auto Analysis)

۱. تصویر ذخیره شده را باز کنید یا بلافاصله پس از گرفتن، روی **Analyze** کلیک کنید.
۲. روی **Auto Analysis** در جعبه ابزار Analysis کلیک کنید.
۳. پارامترهای تشخیص را تنظیم کنید:

- **حساسیت :(Sensitivity)** عددی بین ۰ تا ۱۰۰. پیش‌فرض ۱۰،۰. برای باندهای کمرنگ به ۲۰،۰ افزایش دهید.
- **حساسیت تشخیص باند :**گزینه) Low برای باندهای پررنگ، ۲۵(،) Highبرای باندهای کمرنگ، ۷۵) یا Custom .
- **تنظیمات آنالیز وزن مولکولی (اگر استاندارد دارید):**
  - استاندارد وزن مولکولی) مثلاً (Bio-Rad Precision Plus را انتخاب کنید.
  - مشخص کنید استاندارد در کدام لاین‌ها قرار دارد.
  - روش رگرسیون Linear) برای (semi-log را انتخاب کنید.

ابزارهای آنالیز دستی

ابزار	کاربرد	منبع
Lanes and Bands Tool	اضافه، حذف یا تنظیم مرز لاین‌ها و باندها به صورت دستی. همچنین حذف خودکار پس‌زمینه با) Rolling Disk ۹۹-۱ میلی‌متر(	
Molecular Weight Analysis Tool	محاسبه وزن مولکولی بر اساس استاندارد. نتایج در جدول Analysis Table نمایش داده می‌شود.	
Quantity Tools	آنالیز کمی نسبی و مطلق (محاسبه غلظت با استانداردهای شناخته شده)	
Lane Profile	نمایش نمودار شدت بر حسب موقعیت در هر لاین. مرز باندها با خطوط عمودی مشخص می‌شود.	

Standard Curve	نمایش منحنی کالیبراسیون (molecular weight, absolute quantity, volumeو مقدار) R^2 مقدار نزدیک به ۱ = منحنی عالی(	

تعاریف اندازه‌گیری‌ها در جدول آنالیز

طبق مستندات: Bio-Rad

اندازه‌گیری	توضیح
Band No.	شماره منحصربه‌فرد باند در هر لاین
Mol. Wt. (kDa)	وزن مولکولی محاسبه شده بر اساس استاندارد (مقادیر ایتالیک = برون‌یابی) . برای ژل اسید نوکلئیک، اندازه بر حسب جفت باز.(bp)
Volume (Int)	مجموع شدت تمام پیکسل‌های داخل مرز باند
Abs. Quant.	کمیت مطلق بر اساس استانداردهای شناخته شده
Rel. Quant.	کمیت نسبی نسبت به باند مرجع (R)
Band %	درصد حجم این باند نسبت به کل حجم باندهای لاین
Lane %	درصد حجم این باند نسبت به کل حجم لاین

۵. عیب‌یابی مشکلات رایج(Troubleshooting)

مشکل	علت احتمالی	راه‌حل
تصویر خیلی روشن/باندها اشباع شده (قرمز)	زمان نوردهی (Exposure) خیلی طولانی است	زمان Manual Expose را کاهش دهید یا دوباره Auto Exposeبگیرید
تصویر خیلی تاریک	زمان نوردهی کافی نیست	زمان Manual Expose را افزایش دهید یا Auto Exposeرا دوباره بزنید
نویز پس‌زمینه زیاد است	نور محیط به محفظه نفوذ کرده یا ژل کثیف است	درب محفظه را محکم ببندید. از High/Low Sliders برای کاهش نویز استفاده کنید (Low را به راست بکشید)
فوکوس تصویر تار است	زوم یا فوکوس دوربین تنظیم نشده است	در حالتLive/Focus ، زوم و فوکوس را دوباره تنظیم کنید
دوربین وصل نمی‌شود	کابل USB قطع است یا درایور نصب نشده	کابل‌ها را بررسی کنید. درایور دوربین را طبق دفترچه نصب کنید
نرم‌افزار لانچ نمی‌شود	مشکل پس از قطع برق	کامپیوتر را ریستارت کنید
باندهای غیراختصاصی زیاد شناسایی می‌شود	حساسیت خیلی بالا (High) است یا نویز زیاد است	حساسیت را به Low یا Custom کاهش دهید (مقدار ۲۵) یا Noise Filter را افزایش دهید
باندهای نزدیک به هم یکی شناسایی می‌شوند	تنظیمات تشخیص مناسب نیست	Noise Filterرا کاهش دهید و/یا حساسیت را افزایش دهید

۶. نگهداری و کالیبراسیون(Maintenance & Calibration)

تمیزکاری روزانه

قسمت	روش تمیزکاری	نکات
سطح شیشه (ایمیجینگ پلیت)	با دستمال کیموپ (Kimwipe) و در صورت نیاز الکل ۷۰ %	فقط کیموپ – کاغذ معمولی شیشه را خط می‌اندازد
درب و بدنه خارجی	با دستمال مرطوب	اطمینان از خشک بودن کامل قبل از بستن درب

کالیبراسیون دوره‌ای) بر اساس مستندات (Bio-Rad

نوع کالیبراسیون	توضیح	زمان انجام
Flat Field Correction	جبران ناهمگونی ذاتی لنز دوربین. نیاز به دیسک کالیبراسیون مخصوص Lens Flat Field Calibration disc دارد	راه‌اندازی اولیه یا پس از جابجایی دستگاه
Dark Image Correction	ثبت تصویر در تاریکی کامل برای کاهش نویز پس‌زمینه	راه‌اندازی اولیه
Focus Calibration	کالیبراسیون فوکوس خودکار دوربین برای تمام ارتفاعات	راه‌اندازی اولیه (حداکثر ۷ دقیقه)
White Light/UV Flat Field	جبران اعوجاج ناشی از منبع نور UV یا White Light	راه‌اندازی اولیه

راه‌اندازی اولیه دستگاه جدید

در صورت نصب دستگاه جدید، مراحل زیر را انجام دهید:

۱. نصب نرم‌افزار.Image Lab
۲. اتصال کابل‌هاUSB) ، لنز، دوربین، برق.(
۳. نصب درایور دوربین (در ویندوز).
۴. اجرای – **Instrument Calibration Wizard** این ویزارد کالیبراسیون‌های فوق را به صورت خودکار انجام می‌دهد.

۷. چک‌لیست سریع برای کاربران

مرحله	اقدام	انجام شد؟
۱	دستکش، روپوش و عینک ایمنی پوشیده شده؟	☐
۲	تکنیک یک دستکش رعایت می‌شود؟	☐
۳	ژل در مرکز سینی شیشه‌ای قرار گرفته و حباب هوا ندارد؟	☐
۴	نرم‌افزار باز و دوربین در حالت Live/Focus است؟	☐
۵	زوم و فوکوس تنظیم شده و ژل کامل در کادر است؟	☐
۶	منبع نور مناسب (UV یا White) روشن شده است؟	☐
۷	Auto Exposeگرفته شده یا Manual Expose تنظیم شده است؟	☐
۸	کیفیت تصویر رضایت‌بخش است (اشباع نشده، نویز کم)؟	☐
۹	Freezeزده شده و تصویر ذخیره شده است؟	☐
۱۰	پس از اتمام، UVخاموش، ژل خارج و شیشه تمیز شده است؟	☐
۱۱	لاگ‌بوک با دست بدون دستکش پر شده است؟	☐
۱۲	ژل در ظرف زباله شیمیایی (EtBr waste) انداخته شده است؟	☐

✨جمع‌بندی نهایی

ژل داک ابزاری ضروری برای مستندسازی و آنالیز نتایج الکتروفورز است. با رعایت اصول زیر می‌توانید تصاویر با کیفیت و نتایج قابل اعتمادی داشته باشید:

۱. 🔒**ایمنی اولویت اول** EtBr – جهش‌زاست، نور UV به چشم آسیب می‌زند.
۲. 👆**تکنیک یک دستکش** – کامپیوتر و دستگاه را با دست بدون دستکش لمس کنید.
۳. 📸**تنظیم صحیح نوردهی** – از Auto Expose شروع کنید، سپس Manual را برای بهترین کیفیت تنظیم کنید.
۴. 🔬**آنالیز دقیق** – از Auto Analysis برای تشخیص خودکار لاین‌ها و باندها استفاده کنید و پارامترها (Sensitivity, Molecular Weight Standard)را تنظیم نمایید.