عملیات آزمایشگاهی جهت سنجش نسبت RNA/DNA

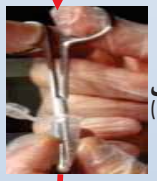
علی حلاجیان – مهتاب یارمحمدی

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر

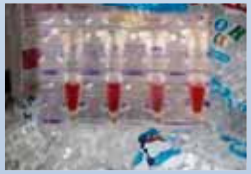
شروع

مقدار ۵۰- ۲۰ میلی گرم بافت عضله

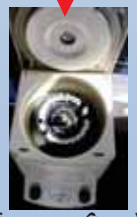
افزودن اسید پرکلریک ۰.۲ نرمال به میزان ۳۰۰ میکرولیتر



هضم فیزیکی (خرد کردن)



قرار دادن بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه



سانتریفوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۳ دقیقه)

دور ریختن مایع رویی بعد از سانتریفوژ

افزودن ۱۵ تا ۳۵ میکرولیتر اسید پرکلریک ۲ نرمال

ورتکس

نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت

ورتکس

افزودن ۶۰ تا ۱۲۰ میکرولیتر NaOH ۰.۳ نرمال

سانتریفوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۳ دقیقه)

قرار دادن بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه

شستشو طی دو مرحله با اسید پرکلریک ۰.۲ نرمال به مقدار ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر

قرار دادن بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه

سانتریفوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۳ دقیقه)

جدا نمودن مایع رویی (حاوی بخش RNA) و هم دما کردن با دمای اتاق

شستشوی مایع زیری طی دو مرحله با اسید پرکلریک ۰.۲ نرمال به مقدار ۳۰۰ میکرولیتر

اسپکتروفتومتر نانودراپ (۲۶۰ نانومتر)

قرار دادن بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه

سانتریفوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۳ دقیقه)

دور ریختن مایع رویی

افزودن ۳۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر اسید پرکلریک ۰.۶ نرمال

ورتکس

نگهداری در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه

ورتکس

قرار دادن بر روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه

سانتریفوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۳ دقیقه)

جدا نمودن مایع رویی (حاوی بخش DNA) و هم دما کردن با دمای اتاق

اسپکتروفتومتر نانودراپ (۲۶۰ نانومتر)

پایان