

استخراج DNA از بافت باله آبزبان با استفاده از محلول نمکی استات آمونیوم

مهتاب یار محمدی - علی حلاجیان

شروع

مقدار ۱۰۰ - ۵۰ میلی گرم بافت

کاغذ صافی



افزودن ۶۰۰ میکرولیتر بافر STE



هضم فیزیکی (خرد کردن)



افزودن ۲۰ میکرولیتر SDS
۲۰٪ - ۲ میکرولیتر پروتئیناز K (۱۰ mg/ml)



انکوباسیون در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد
بمدت ۲ ساعت (دستگاه ترمومیکسر)



رسوب DNA:
افزودن ۸۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق سرد
تکان دادن ویال-ها تا ظاهر شدن کلاف DNA

جدا کردن ۴۰۰ میکرولیتر از محلول رویی و انتقال به یک ویال جدید



سانتریفوژ (به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه)



افزودن ۶۰۰ میکرولیتر استات آمونیوم ۷.۵ مولار



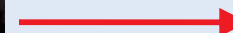
سانتریفوژ (به مدت ۷ دقیقه و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه)



خالی کردن محلول رویی و اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ سرد



سانتریفوژ (به مدت ۳ دقیقه و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه)



زدودن کامل الکل و خشک نمودن ویال

پایان

نگهداری در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد

افزودن ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به ویال DNA و انکوباسیون به مدت ۸ تا ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد