خریدار بر اساس توضیحات نمونه (تست وزن دانه و جوانه) است. در اغلب موارد خریداران به دیدن نمونه برای ارزیابی خسارت احتمالی آب و هوا قبل از هر گونه تعهد برای خرید دانه اقدام می کنند.

مهندس مصطفی حق پناه
کارشناس مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

آزمایشگاه بیوتکنولوژی

استخراج DNA ژنومی از باکتری

با توجه به افتتاح بخش بیوتکنولوژی در مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، از این پس سعی می گردد در قالب خبرنامه پروتکل‌های مرتبط با بیوتکنولوژی ارائه گردد.

باکتری‌ها نقش مهمی در مهندسی ژنتیکی بخصوص در کلون کردن، انتقال و ساخت سازه‌های انتقال ژن دارند. استخراج DNA ژنومی باکتری‌ها نیز یکی از نیازهای اولیه در مهندسی ژنتیک است. در این مطلب به استخراج DNA ژنومی باکتری (عموماً گرم منفی) پرداخته می‌شود.

مراحل استخراج DNA ژنومی باکتری:

۱. انکوبه کردن باکتری در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع به مدت ۸ ساعت (کشت شبانه) در دمای اتاق.

۲. سانتریفیوژ برای ۳۰ ثانیه در ۱۳۰۰۰ دور بر ثانیه (محیط کشت در چند میکروتیوب تقسیم شود).

۳. حذف مایع رویی، حل کردن پلت در ۵۶۷ میکرولیتر بافر TE (به خوبی با ورتکس مخلوط شود).

۴. مقدار ۳۰ میکرولیتر بافر استخراج به محلول اضافه گردد و به‌خوبی ورتکس شود (بافر استخراج شامل: ۱۰ درصد SDS، ۳ میکرولیتر استات سدیم ۳ مولار با pH= ۵/۲، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر NaCl پنج مولار، ۸۰ میکرولیتر CTAB-NaCl (حجم کل ۷۸۰ میکرولیتر)).

۵. محلول فوق به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه شود (با واژگون کردن مخلوط شود).

۶. به اندازه حجم محلول به آن کلروفرم/ایزوآمیل الکل (۲۴/۱) اضافه شود و با واژگون کردن مخلوط گردد.

۷. به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ ۱۳۰۰۰ rpm قرار گیرد تا فازها از هم جدا شوند.

۸. انتقال مایع رویی شفاف به میکروتیوب جدید.

۹. جهت حذف آلودگی پروتئینی اضافه کردن فنل/کلروفرم/ایزوآمیل الکل (۱/۲۴/۲۵) به محلول اضافه شده و سانتریفیوژ شود (۱۵ دقیقه ۱۳۰۰۰ rpm) حداکثر سه مرتبه تکرار شود.

۱۰ به مقدار ۲/۳ حجم محلول، ایزوپروپانول سرد به آن اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰- سانتی گراد نگهداری شود.

۱۱. سپس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ rpm) و پلت حاصله

۱۲. پلت حاصل پس از شستشو با الکل (۷۰ درصد) در TE یا آب مقطر استریل حل می‌شود.