أ.أمل الغامدي

استخلاص الحمض النووي DNA من خلايا حقيقات النواة

مثل Saccharomtces cerevisiae

الأدوات

- بيئة خميرة YPD(1% yeast extract – 2% peptone – 2% dextrose)
- مزرعة خميرة نقية yeast
- تحضير محلول المنظم Harju- buffer

(1Mm EDTA-10Nm Tris-HCL Ph=8- 100mM NaCl -1% SDS – 2% trition X -100)

- كحول الايثانول –
- الكلوروفورم
- انابيب Eppendorof tubes 1.5 ml
- ماصات دقيقة الالكترونية – TIPS - ماصات معقمة 1ml
- جهاز vortex - جهاز طرد مركزي دقيق Microcentrifuge - حمام مائي ٥٩°م – حمام ثلجي .

طريقة العمل

١. نقل 1.5 ml من البيئة السائلة الملقحة بالخميرة من ٢٠ -٢٤ ساعة في بيئة YPD الي امبوبة طرد مركزي دقسقة ترسب الخلايا بالطرد المركزي عند سرعة 20,000 لمدة 1-5 دقيقة.
٢. يضاف 200µl من Harju- buffer
٣. غمر الانابيب في حمام مائي ثلجي من الايثانول لمدة دقيقتين
٤. تنتقل الي حمام مائي ٥٩°م لمدة دقيقة
٥. تكرر الخطوه ٣-٤
٦. Vortexلمدة 30ثانية.
٧. يضاف 200µl من الكلورفورم ثن vortex لمدة دقيقتين .
٨. طرد مركزي لمدة 3دقائق عند سرعة 20,000 في درجة حرارة الغرفة.
٩. نقل الطبقة العلوية (الرائق) الي انابيب طرد دقيقة أخرى تحتوى على 400µl من الايثانول الثلجي 100% يتم مزجها بلطق بالفورتكس .
١٠. تحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 5دقائق
١١. طرد مركزي لمدة 5 دقائق عند 20.000 في درجة حرارة الغرفة.
١٢. نتخلص من الرائق.
١٣. يغسل الراسب ب 0.5ml من الايثانول 70%.
١٤. طرد مركزي لمدة 5دقائق عند 20.000 في درجة حرارة الغرفة .
١٥. تاخلص من الرائق.
١٦. يجفف الراسب في درجة حرارة الغرفة لمدة 5دقائق .
١٧. تعلق قي µl 25-50 من محلول TE (PH 8) او الماء.