طريقة استخلاص الحمض النووي من خلايا حقيقيات النواة

Saccharomyces cerevisiae

الأدوات :-

1- بيئة لنمو الخميرة YPD مكونة من (1% YEAST EXTRACT - 2% PEPTONE -2% DEXTROSE)
2- مزرعة خميرة نقية
3- تحضير المحلول المنظم Haju-buffer
trition x-100 2% - SDS 1% - 100 mM NaCl -10 Nm Tris-HCL,PH =8 - 1Mm EDTA

4- كحول الايثانول
5- الكلوروفورم
6- أنابيب eppendorf tubes 1.5 ml
7- ماصات دقيقة electromicropipett – tips
8- ماصات امل معقمة
9- جهاز vortex
10- جهاز طرد مركزي دقيق
11- حمام مائي 59م – حمام ثلجي

طريقة العمل
1- نقل 1.5 مل البيئة السائلة الملقحة بالخميرة من 20-24 ساعة في بيئة YPD في انبوبة طرد مركزي دقيقة ترسب الخلايا بالطرد المركزي عند سرعة 20.000 لمدة 1-5 دقائق
2- يضاف 200 µl من Haju-buffer
3- غمر الأنابيب في حمام ثلجي من الإيثانول لمدة دقيقتين
4- تنقل الي حمام مائي 59م لمدة دقيقة واحدة
5- تكرر الخطوة 3 و 4
6- Vortex لمدة 30 ثانية
7- يضاف 200 µl من الكلورفورم ثم Vortex لمدة دقيقتين
8- طرد مركزي لمدة 3 دقائق عند سرعة 20.000 في درجة حرارة الغرفة
9- نقل الطبقة العلوية (العلوية) الي انابيب طرد دقيقة اخرى تحتوي علىم 400 µl من الايثانول الثلجي 100% يتم مزجها بلطف في Vortex
10- تحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق
11- طرد مركزي لمدة 5 دقائق عند 20.000 في درجة حرارة الغرفة
12- نتخلص من الرائق
13- يغسل الراسب ب 0.5 ml من االايثانول 70%
14- طرد مركزي لمدة 5 دقائق عند 20.000 في درجة حرارة الغرفة
15- نتخلص من الرائق
16- يجفف الراسب في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق
17- تعلق 25-50 µl من محلول TE (PH8) او في الماء