

مهندس مصطفی قی پناه

کارشناس مجامع تحقیقات کاربردی و تولیدی

شرکت توسعه کشت و ازنمایی روغنی



استخراج DNA ژنومی از بذر سویا

(۱:۲۴:۲۵) به آن اضافه می‌شود. سپس ویال‌ها را به آرامی تکان داده و در سانتریفوژ ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه قرار می‌گیرد.

بعد از سانتریفوژ شدن، سه فاز در ویال تشکیل می‌گردد که فاز رویی (آبی - نمکی) را با احتیاط به کمک سمپلر به ویال ۰/۲ میلی لیتر منتقل کرده و محلول ایزوپروپانل سرد (نگهداری شده در ۲۰-) به آن اضافه می‌شود و به آرامی تکان داده شده و در به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- قرار می‌گیرد.

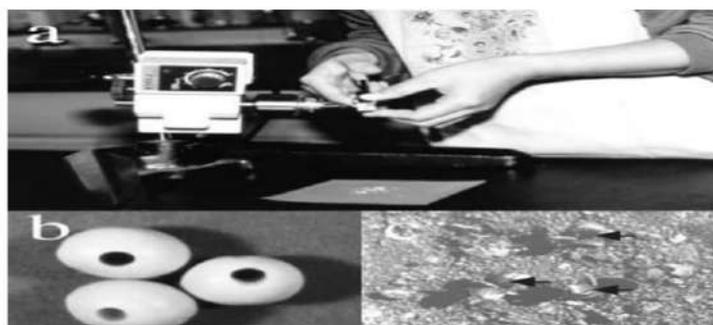
بعد از سانتریفوژ شدن ویال‌های مورد نظر و تشکیل پلت‌های DNA، محلول باقی مانده را خالی کرده و پلت بدست آمده را با استفاده از الکل ۷۰ درصد شستشو داده می‌شود. سپس الکل‌ها را خالی کرده و ویال‌ها را زیر هود استریل، در باز گذاشته تا خشک شوند. در نهایت پلت شستشو شده را در محلول TE یا آب استریل (به حجم ۵۰ یا ۱۰۰ میکرو لیتر) حل می‌شود و کمیت و کیفیت DNA استخراج شده بررسی می‌شود.

جدول ۱. بافر استخراج DNA بذر سویا

pH	مقدار ماده	ماده مورد نظر
۷/۸	Mm ۱۰	Tris-HCl
	Mm ۵	EDTA
	٪ ۰/۵	SDS
	٪ ۰/۵	NP-40
	٪ ۰/۵	Tween-20

انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی (MAS) یکی از ابزارهای مفید و پر کاربرد در اصلاح نباتات می‌باشد. این تکنیک کاربردی فراوان در شناسایی ژن‌های مقاومت و نقشه‌یابی صفات مهم زراعی در سویا دارد. اما پیش از اعمال این تکنیک (MAS) به دست آوردن DNA ژنومی با کیفیت مطلوب از سویا بسیار حائز اهمیت است. استخراج DNA از از بذر سویا به دلیل عدم نیاز به بافت زنده می‌تواند در مطالعات مولکولی سویا بسیار مناسب باشد و در وقت و هزینه صرفه جویی شود. از این رو سعی گردیده در این مطلب روشی برای استخراج DNA از بذر سویا ارائه می‌شود.

بذر مورد نظر را با استفاده از دریل از مرکز سوراخ کرده و از پودر حاصله در استخراج DNA استفاده می‌شود (شکل-۱).



شکل ۱. سوراخ کردن بذر سویا بمنظور استخراج DNA

مقدار ۱۰ تا ۳۰ میلی گرم پودر سویا را در ویال‌های ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۰/۲ میلی لیتر بافر استخراج (جدول ۱) ریخته و مقدار ۱۶ میکروگرم آنزیم پروتیناز K اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد انکوبه شده و سپس ۰/۲ میلی لیتر محلول فنول/کلروفرم/ایزو امیل الکل