

بسم الله الرحمن الرحيم

251 حدق

الأحياء الجزيئية

المعمل الخامس :

استخلاص الحمض النووي DNA

من الكائنات حقيقية النواة

علم الجينوم :

علم الجينوم هو أحد فروع علم الوراثة المتعلق بدراسة كامل المادة الوراثية داخل مختلف الكائنات الحية على مستوى الحمض النووي DNA.

أما عندما يتم دراسة عدد محدود من الجينات (وليس كل الجينات)

يطلق عليها الأحياء الجزيئية molecular biology

أو علم الوراثة الجزيئي genetics

وبحلول شهر سبتمبر عام ٢٠٠٧م ، تم التعرف على التسلسل الكامل للجينوم في :

- ١٨٧٩ فيروس .
- و ٥٧٧ نوعا من البكتيريا .
- و ٢٣ جينوم من الكائنات حقيقية النواة تقريبا
كان نصفها من الفطريات.

• معظم البكتيريا التي فك تسلسلها الوراثةي **الجينوم**
كانت لأنواع

تسبب أمراضاً . من الأجناس الحية الأخرى
التي تم فك شفرتها هي الكائنات الحية الهامة في
الأبحاث الطبية والحيوية. كمثال كانت (خميرة الخبز)
منذ فترة طويلة (كائن نموذجاً هاماً للكائنات حقيقية
النواة .

استخلاص الحمض النووي DNA من الخميرة

الأدوات والأجهزة :

- بيئة لنمو الخميرة YPD ، مكونة من :

(2% ، 2% peptone ، 1% yeast extract ،
dextrose)

- خميرة (yeast) .

• تابع المواد الأدوات والأجهزة :

Harju-buffer :

2% triton X-100

1% SDS

100mM NaCl

10 mM Tris-HCL , pH=8.0

1 mM EDTA

تابع المواد

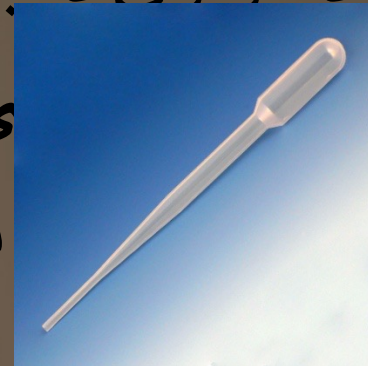


جهاز الرج (Vortex)

طرد مركزي، دقيق ntrifuge

ي عند 59° .

ثلجي.



طريقة العمل :

1. نقل 1.5 مل من البيئة السائلة المملحة بالخميرة من 20 الى 24 ساعة عند 30° في بيئة YPD إلى أنبوبة طرد مركزي دقيقة ترسب الخلايا بالطرد المركزي عند سرعة 20.000 لمدة 1 - 5 دقائق .
2. يضاف 200 µl من Harju- buffer
3. غمر الأنابيب في حمام مائي ثلجي من الايثانول لمدة دقيقتين .
4. تنقل الى حمام مائي 59° لمدة 1 دقيقة .
5. تكرر الخطوة 3 و 4
6. . لمدة 30 ثانية vortex
7. يضاف 200 µl من الكلوروفورم ثم فورتكس لمدة دقيقتين .
8. طرد مركزي لمدة 3 دقائق عند سرعة 20.000 في درجة حرارة الغرفة .

تابع طريقة العمل :

9. نقل الطبقة العلوية (الرائق) إلى أنابيب طرد دقيقة أخرى تحتوي على 400 µl من الايثانول الثلجي 100% - يتم مزجها بلطف في الفورتكس .

10. تحضين في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق .

11. طرد مركزي لمدة خمس دقائق عند 20.000 في درجة حرارة الغرفة .

12. نتخلص من الرائق .

13. يغسل الراسب بـ 0.5 مل من الايثانول 70% .

14. طرد مركزي لمدة خمس دقائق عند 20.000 في درجة حرارة الغرفة .

15. نتخلص من الرائق .

16. يجفف الراسب في درجة حرارة الغرفة لمدة خمس دقائق

17. تعلق في 25-50 µl من محلول TE (pH 8.0) او في الماء

