

# روش ساده و مؤثر برای استخراج DNA ژنومی از گیاد و قارچ جهت آزمون‌های مبتنی بر PCR

## Simple and effective method for genomic DNA extraction from plant and fungus for PCR-based analyses

بیمن نوروزی

برای استخراج DNA ژنومی از منابع گیاهی و قارچی روش‌های بسیاری وجود دارد که در آزمایشگاه‌های مختلف بسته به میزان کمیت و کیفیت DNA مورد نیاز از آن‌ها استفاده می‌گردد. با این حال، اصول کلی مراحل استخراج DNA در اغلب روش‌ها یکسان است (Edward et al. 1991; Murry and Thompson 1980; Rogers and Bendich 1988; Saghai- Maroof et al. 1984). با توجه به انجام طرح‌های تحقیقاتی مبتنی بر نشانگرهای مولکولی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مؤسسه تحقیقات چغندر قند، نیاز به روشی ساده، کم هزینه و درعین حال کارآمد برای استخراج DNA ژنومی گیاه و یا قارچ که پیش نیاز آزمون‌های مولکولی مبتنی بر PCR می‌باشد حس می‌گردد. بنابراین سعی گردید با مقایسه چندین روش استخراج DNA در منابع مختلف (Cartner and Milton 1993; Edward et al. 1991; Huang and San 2000; and Thomas 1980; Rogers and Bendich 1988; Saghai- Maroof et al. 1984) به روشی ساده و تکرارپذیر دست یافت که مورد استفاده برای منابع گیاهی و قارچی باشد. در نهایت، روش یا دستورالعمل زیر به کار گرفته شد و DNA استخراج شده از نمونه‌های مختلف دو منبع گیاهی و قارچی پس از تعیین کمیت و کیفیت، مورد آزمون PCR اختصاصی و RAPD قرار گرفتند. الگوی نوارهای حاصل از تکثیر DNA نشان داد که روش به کار رفته در استخراج DNA برای هر دو منبع گیاهی و قارچی مؤثر بوده است (شکل ۱). زمان لازم برای این روش استخراج کم‌تر از سه ساعت بوده و در مقایسه با اکثر روش‌های معمول در آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی مولکولی با هزینه کم‌تری قابل انجام است.

### دستورالعمل استخراج DNA ژنومی از گیاه و قارچ

ابتدا محلول‌های بافر استخراج طبق جدول یک تهیه گردد.

جدول ۱- تهیه ۱۰۰ میلی لیتر بافر استخراج DNA

Table 1 Preparing of 100 ml DNA extraction buffer

مغلول‌های ذخیره	حجم برظشتی (میلی لیتر)	غلظت نهایی
Stock solutions	Required volume (milt)	Final concentration
SDS 5%	20	1%
NaCl, 2.5M	20	500 mM
Tris HCl, 1M, pH=8	10	100 mM
EDTA, 0.5 M, pH=8	10	50 mM
ddH <sub>2</sub> O	39	----
2-Mercaptoethanol (add Freshly)	1	1%