

پوستر

مقایسه روش‌های مختلف جهت استخراج DNA از بافت برگ ارقام گیلاس

شکوهی فر، فرهاد^۱ و مشیری، فرشته^۲

۱- عضو هیات علمی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی

وجود ترکیبات فنلی و ترکیبات ثانویه دیگر، استخراج DNA از بافت برگ گیلاس را مشکل ساخته است. در این مطالعه چندین روش استخراج DNA جهت استخراج از بافت برگ ۱۲ رقم گیلاس مورد مقایسه قرار گرفت. روش نخست بر اساس روش دلاپورتا و در حجم کم انجام شد. در روش دوم از دستورالعمل CTAB در حجم کم استفاده شد و در روش سوم از دستورالعمل CTAB با انجام تغییراتی و در حجم بالا استفاده گردید. کمیت DNA استخراج شده با تعیین میزان جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بوسیله دستگاه بیوفتومتر مشخص شد. بمنظور بررسی خلوص DNA استخراج شده میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر تعیین و نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ محاسبه شد. کیفیت DNA از نظر وجود شکستگی و مقدار RNA استخراج شده بوسیله الکتروفورز با ژل آگاروز ارزیابی شد. نتایج حاصل از سه روش با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفت و تأثیر ارقام در ویژگی DNA استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت. در میان روش‌های بکارگرفته شده جهت استخراج DNA از بافت برگ ارقام گیلاس، روش دلاپورتا از نظر کمیت و میزان آلودگی DNA استخراج شده کارآیی پائینی داشت. در حالیکه روش CTAB در حجم بالا کارآیی مناسبی از نظر کمیت و کیفیت و خلوص DNA

استخراج شده نشان داد. در این روش مراحل جداسازی DNA با استفاده از یک میله شیشه‌ای انجام شد. این عمل تا حد زیادی از انتقال ترکیبات ثانویه موجود در بافت برگ گیلاس به مرحله بعد جلوگیری نمود. علاوه بر این در این روش به دلیل عدم استفاده از سانتریفیوز جهت رسوب دهی DNA، مقدار شکستگی ایجاد شده در روش‌های قبلی تا حد زیادی کاهش یافت. میزان جذب DNA استخراج شده مربوط به نمونه های مختلف در طول موج ۲۶۰ نانومتر بسیار متغیر بود. کمترین میزان جذب در رقم ۴۵- و ۲۴ و بالاترین میزان جذب در رقم ۶-۳۰ مشاهده شد، که در واقع به ترتیب معرف بیشترین و کمترین غلظت DNA استخراج شده با مقادیر ۶۵۰ و ۱۲۰ نانوگرم در میکرولیتر بود. تفاوت ارقام در نتایج الکتروفورز نیز قابل مشاهده بود. قویترین باند DNA به رقم ۶-۳۰ مربوط بود که با نتایج اسپکت نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر انطباق داشت. بطور کلی نتایج جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰٫۰۱ بین ارقام مختلف بود.

کلید واژه: گیلاس، استخراج DNA، دلاپورتا، CTAB