



REZULTATELE OBȚINUTE ÎN ACTIVITATEA DE VOLUNTARIAT DIN CADRUL LEDOMG

04-15.01.2016

MARINECI ANA-MARIA

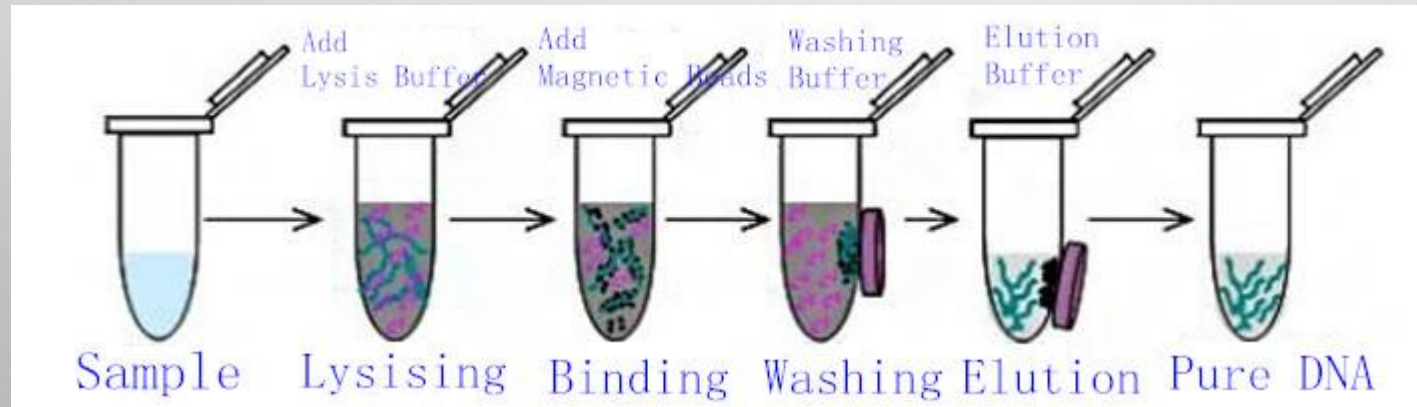


EXTRACTIE ADN

IZOLAREA ADN-ULUI ESTE O PROCEDURĂ FOLOSITĂ ÎN VEDEREA OBȚINERII MATERIALULUI GENETIC AL DIVERSELOR TIPURI DE ORGANISME, ÎN SCOPUL UTILIZĂRII ACESTUIA ÎN ANALIZELE MOLECULARE ULTERIOARE.

ORICE PROTOCOL DE EXTRACȚIE A ADN GENOMIC ARE 4 ETAPE PRINCIPALE:

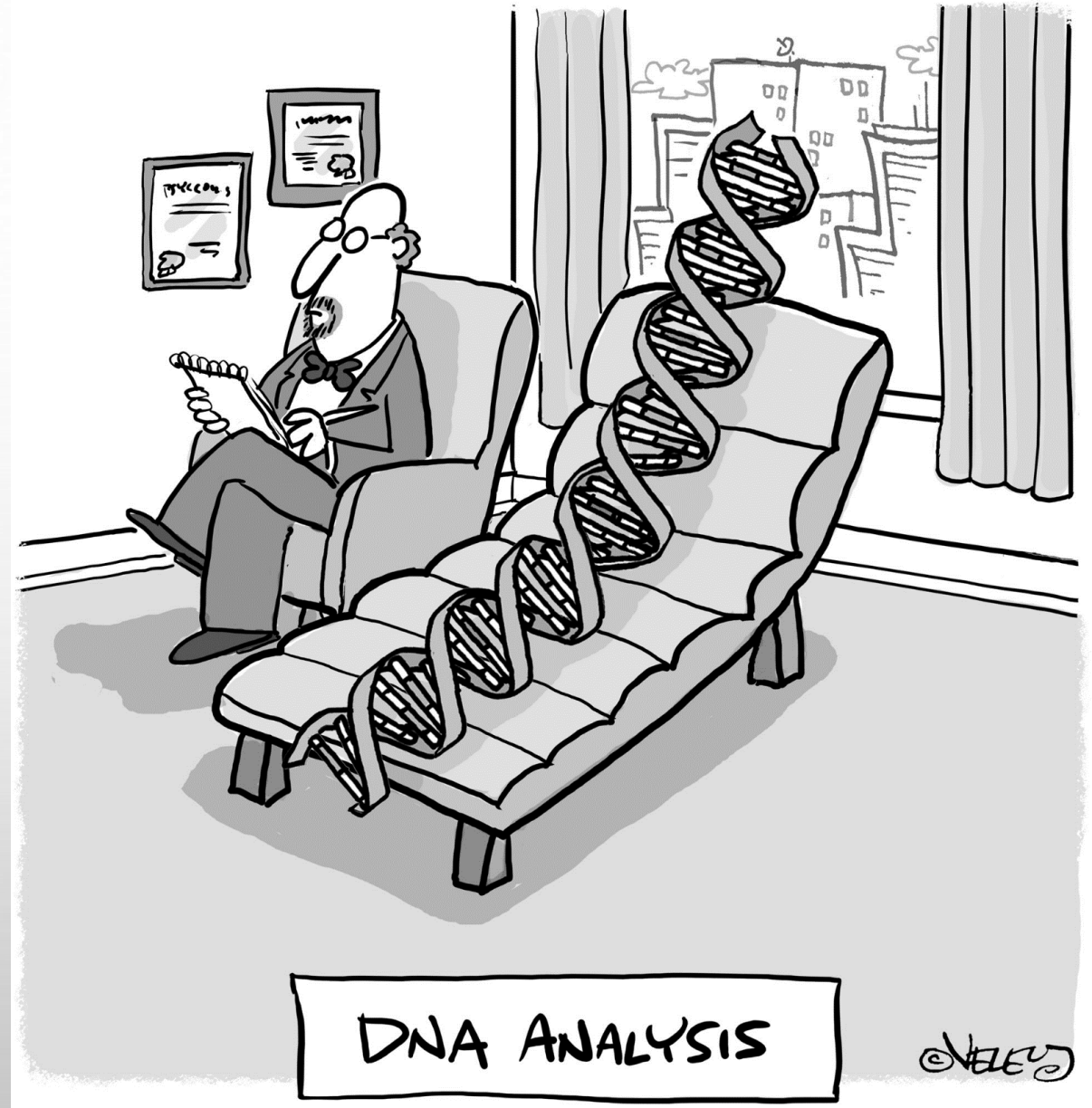
1. LIZA CELULARĂ, PENTRU CA MOLECULELE DE ADN SĂ FIE EXPUSE TRATAMENTELOR ULTERIOARE.
2. ÎNDEPĂRTAREA MEMBRANELOR LIPIDICE FOLOSIND DETERGENȚI.
3. ÎNDEPĂRTAREA PROTEINELOR CU AJUTORUL ANUMITOR ENZIME NUMITE PROTEAZE (EX: PROTEINAZAK).
4. PRECIPITAREA ADN FOLOSIND ALCOOLI (ETANOL, IZOPROPANOL ETC.)



EXTRACTIE ADN DIN SALIVA CU HIGH PURE PCR TEMPLATE PREPARATION KIT

- MATERIALE FOLOSITE:

1. TUBURI DE 4 ML SIMPORT T405-2A
2. CENTRIFUGA MIKRO 220R-HETTICH
3. TUBURI EPPENDORF 1,5-2 ML BIOPUR
4. PIPETE BRAND TRANSFERPETTES



- PROTOCOL:

1. PRELUARE PROBA SALIVA IN TUBURI SIMPORT
2. SE ADAUGA 200 ML MATERIAL IN TUBURI EPPENDORF 2ML
3. CENTRIFUGARE
4. SE ADAUGA BINDING BUFFER
5. SE ADAUGA PROTEINAZA K
6. SE AGITA SI SE INCUBEAZA PE BAIE DE APA LA 70°C TIMP DE 10 MIN
7. SE ADAUGA 100ML IZOPROPANOL
8. SE ASAMBLEAZA COLOANELE IN TUBURI DE COLECTARE
9. CENTRIFUGARE 1 MIN
10. SPALARE
11. ELUARE ADN



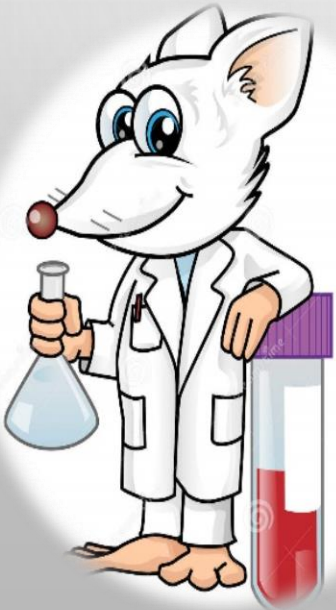
• VARIATII EXPERIMENTALE:

1. VARIATIA 1 (PROBELE C, D) :

- SE ADAUGA RN-AZA DUPA ADAUGAREA PROTEINAZEI K
- SE AGITA SI SE INCUBEAZA TIMP DE 10 MIN LA 70°C PE BAIE DE APA

2. VARIATIA 2 (PROBELE G, H) :

- SE ADAUGA LYSIS BUFFER INAINTE DE ADAUGAREA PROTEINAZEI K
- SE AGITA
- SE LASA PE BAIE DE APA 20 MIN LA 55°C
- SE ADAUGA RN-AZA SI SE LASA PE BAIE DE APA 30 MIN LA 65°C



ELECTROFOREZA

- SE PREPARA GELUL DE AGAROZA:

1. AGAROZA (PROMEGA) 0.8 SI 2.7%
2. SOLUTIE TAMPON (TAE) 100ML
3. SE PUNE AMESTECUL LA CUPTORUL CU MICROUNDE

- SE ADAUGA 5 ^{μL} RED SAFE (INTRON BIOTECHNOLOGY, KOREA)

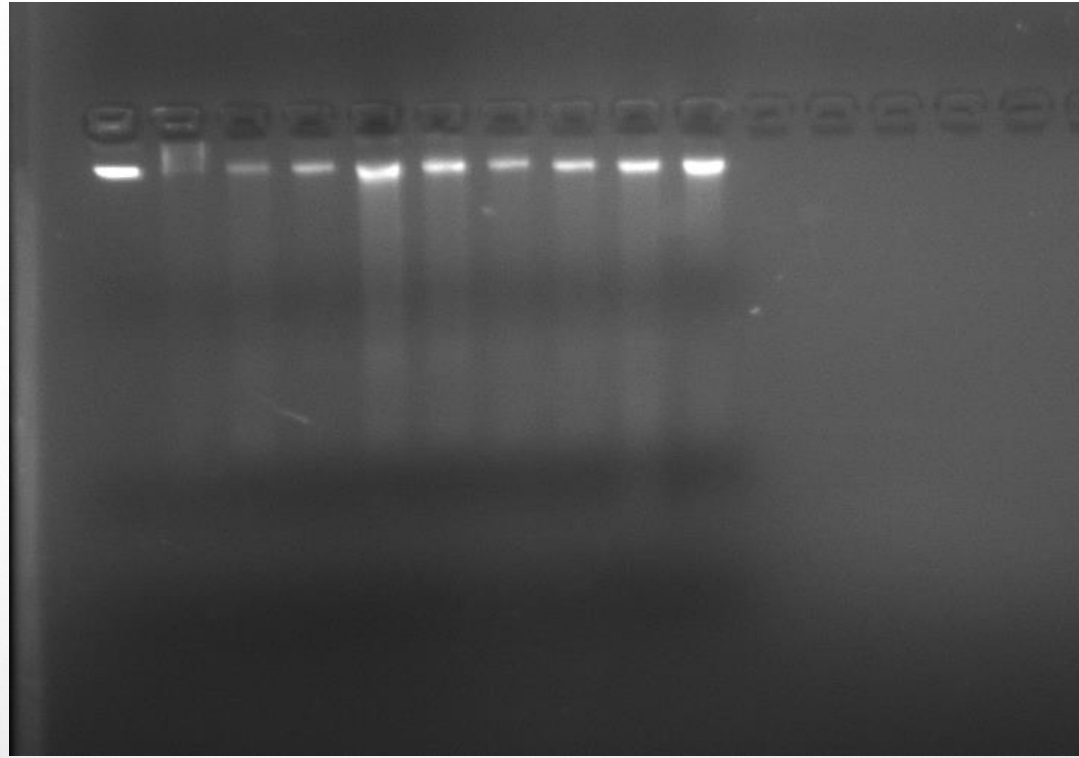
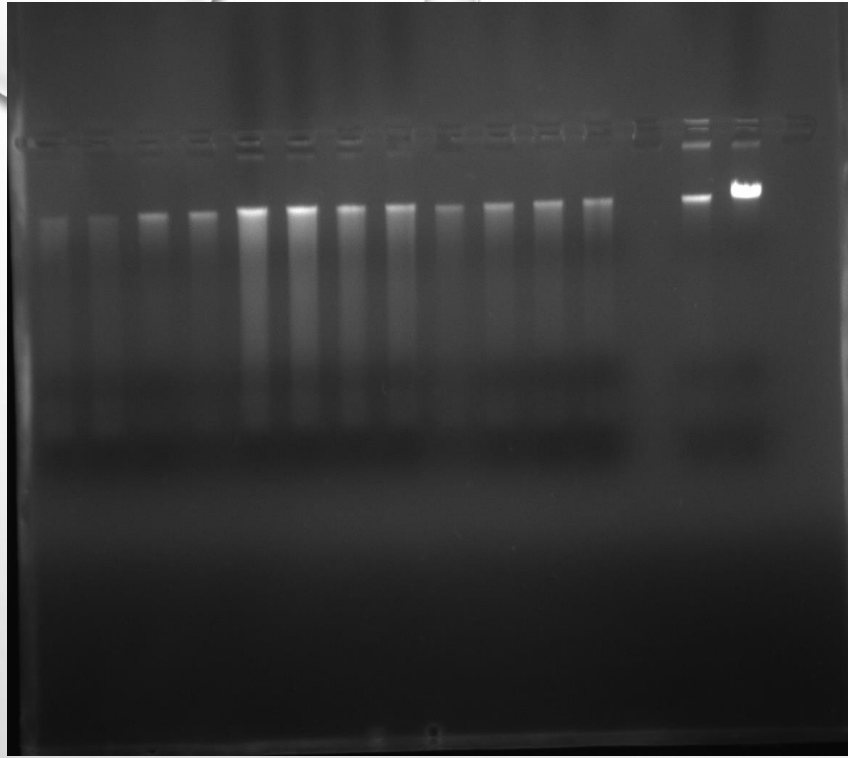
- SE TOARNA GELUL IN CUVA

- SE ASTEAPTA POLIMERIZAREA AGAROZEI

- SE PUN PROBELE IN GODEURI SI CONTROLUL POZITIV

- SE ASTEAPTA REZULTATELE

REZULTATE ELECTROFOREZA:



IMG1: A, A1, B, B1, C, C1, D, D1, E, E1, F, F1, L, ADNC. 0,8% AGAROZA 08.01.2016

IMG2: CONTROL1, CONTROL2, A, B, C, D, E, F, G, H. 2,7% AGAROZA. 13.01.2016

IMG3: A, B. 2,7% AGAROZA. 06.01.2016

SPECTOFOTOMETRIE

Proba	A230	A260	A280	A340	A260/280	A260/230	ng/ μ l
A	0,287	0,442	0,263	0,052	1,85	1,66	19,5
B	0,313	0,480	0,294	0,066	1,82	1,68	20,7
C	1,004	1,893	1,100	0,123	1,81	2,01	88,5
D	0,690	1,135	0,697	0,165	1,82	1,85	48,5
E	0,697	0,948	0,715	0,466	1,94	2,08	24,1
F	0,280	0,545	0,306	0,026	1,85	2,04	25,9
G	0,429	1,034	0,534	0,016	1,96	2,47	50,9
H	0,541	1,430	0,779	0,011	1,85	2,68	71,0

BIBLIOGRAFIE

- [HTTP://THUMBS.DREAMSTIME.COM/Z/RAT-LAB-WHITE-FUNNY-LABORATORY-CARTOON-34061020.JPG](http://THUMBS.DREAMSTIME.COM/Z/RAT-LAB-WHITE-FUNNY-LABORATORY-CARTOON-34061020.JPG)
- [HTTP://I00.I.ALIIMG.COM/IMG/PB/515/696/098/1098696515_006.JPG](http://I00.I.ALIIMG.COM/IMG/PB/515/696/098/1098696515_006.JPG)
- [HTTP://WWW.EYEONDNA.COM/WP-CONTENT/UPLOADS/2007/08/SCIENTIST-1.GIF](http://WWW.EYEONDNA.COM/WP-CONTENT/UPLOADS/2007/08/SCIENTIST-1.GIF)
- [HTTPS://EXPERIMENT-UPLOADS.S3.AMAZONAWS.COM/25273/ZMJWVPQ2TJUIIADXPTKU_DNA-ANALYSIS.PNG](https://EXPERIMENT-UPLOADS.S3.AMAZONAWS.COM/25273/ZMJWVPQ2TJUIIADXPTKU_DNA-ANALYSIS.PNG)