



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003675

(51) **C12Q 1/68; C12N 15/10**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00133

(22) 03/04/2020

(45) 25/09/2024 438

(43) 25/10/2021 403

(76) Lê Minh Đức (VN)

6/113 C Lê Đức Thọ, phường 15, quận Gò Vấp, thành phố Hồ Chí Minh

(74) Công ty Cổ phần PHANLAW VIETNAM (PHANLAW VIETNAM JSC)

(54) **PHƯƠNG PHÁP TÁCH CHIẾT ADN TỪ CÁC TẾ BÀO CHUỐI SỨ HOẶC
HÀNH TÂY**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sứ, hành tây bao gồm các bước: a) Chuẩn bị nguyên liệu bằng cách nghiền mẫu trong túi zip có bổ sung dung dịch muối NaCl 0,9%; b) Lọc dịch chiết thu được ở bước trên bằng vải lọc; c) Ủ enzym bromelain trong nước ấm rồi lọc lấy dịch chiết; d) Cho dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa dịch chiết thu được ở bước b, Khuấy nhẹ; e) Phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng enzym bromelain; g) Tách chiết các phân tử ADN bằng etanol 70%; h) Kiểm tra sản phẩm thu được bằng dung dịch diphenylamin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực sinh học phân tử. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp tách chiết ADN từ tế bào chuỗi, hành tây thích hợp sử dụng trong các thí nghiệm tách chiết ADN ở các trường phổ thông hoặc các cơ sở nghiên cứu khác.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Tách chiết ADN là kỹ thuật cơ bản trong hầu hết các phòng thí nghiệm phân tử, di truyền và sinh học nói chung, thậm chí kỹ thuật này còn được phổ cập trong môn sinh học ở trường phổ thông, cụ thể là các thí nghiệm tách chiết ADN từ nguyên liệu là tế bào chuỗi hoặc hành tây. Mặc dù đối với mỗi loại tế bào, kỹ thuật tách chiết có thể khác nhau, do đó đòi hỏi phương pháp khác nhau, nhưng kỹ thuật tách chiết ADN nói chung bao gồm các bước cơ bản sau: phá màng tế bào; loại bỏ protein và tủa, thu ADN. Những khác biệt cơ bản của các phương pháp này là sử dụng các hóa chất, dụng cụ, thiết bị khác nhau tùy vào mục đích tách chiết. Cũng chính vì sử dụng các hóa chất, dụng cụ, thiết bị khác nhau, nên các phương pháp có thể mang lại các hiệu quả khác nhau.

Đã biết nhiều phương pháp tách chiết AND sử dụng các thành phần hóa chất và dụng cụ, thiết bị khác nhau. Dưới đây là một số ví dụ:

Phương pháp tách chiết ADN/ARN (SBC Scientific) sử dụng các thành phần: Dung dịch 1 (Trizol) gồm phenol 38%, guanidini thioxyanat (guanidinium thiocyanate) 0,8M, glyxerol 5%; dung dịch 2 là clorofom; dung dịch 3 là isopropanol tuyệt đối chứa chất trợ tủa; dung dịch 4 là etanol 70%; dung dịch 5 là dung dịch TE 1X (Tris 0,1M - EDTA 0,001M); Dụng cụ-thiết bị gồm micropipet (micropipette) và các đầu tip tương ứng, ống li tâm nhựa (eppendorf) 1,5ml, máy ly tâm, máy lắc (vortex), máy ủ.

Phương pháp tách chiết ADN (Công ty Nghiên cứu sinh học NCPPB) sử dụng các thành phần: Dung dịch 1 là hỗn hợp chất tẩy natri dodexyl sulfat (Sodium dodecyl sulfate - SDS), sarcosyl và proteinaza; dung dịch 2 là đệm TE (pH 8); dung dịch 3 gồm proteinaza K, CTAB và clorofom; dung dịch 4 là etanol 96% hoặc isopropanol; dung dịch 5 là etanol 70%; máy đo quang phổ hoặc máy điện di.

Phương pháp tách chiết ADN của vi khuẩn lao (Bằng độc quyền GPII số 2-0001780 của Trường Đại học khoa học tự nhiên) sử dụng hạt MagSi nano; các đệm RB, BB, WB1, WB2, và EB.

Phương pháp tách chiết ADN từ tiêu bản mô cố định (Bằng độc quyền GPII số 2-0002116 của Trường Đại học khoa học tự nhiên) sử dụng hạt MagSi nano; các đệm LB, BB1, BB2, WB1-1, WB2-1, WB1-2, WB2-2, EB1, và EB2.

Các phương pháp tách chiết ADN nêu trên sử dụng các thành phần hóa chất và dụng cụ - thiết bị tương đối phức tạp, giá thành cao, cần nhiều thời gian thực hiện nên không phù hợp với điều kiện dùng trong nhà trường hoặc các cơ sở nghiên cứu không dồi dào về tài chính. Hơn nữa, các phương pháp này không thích hợp để tách chiết ADN từ tế bào chuỗi, hành tây - là những đối tượng của các thí nghiệm thực hành trong các trường học phổ thông. Do đó, vẫn có nhu cầu về phương pháp tách chiết ADN từ tế bào chuỗi, hành tây thích hợp để sử dụng trong nhà trường.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là khắc phục những nhược điểm nêu trên.

Để đạt được mục đích đó, giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp tách chiết ADN chuyên dùng để tách chiết ADN từ tế bào chuỗi sủ, hành tây. Phương pháp này sử dụng các thành phần hóa chất và dụng cụ sẵn có trên thị trường và có giá thành thấp, đặc biệt thích hợp để tiến hành các thí nghiệm bộ

môn sinh học trong các trường Trung học cơ sở (THCS) và Trung học phổ thông (THPT). Cụ thể các thành phần này bao gồm: dung dịch muối NaCl 0,9%; dung dịch phá màng tế bào và màng nhân; dung dịch enzym bromelain để phân giải tế bào; dung dịch diphenylamin để kiểm tra sản phẩm ADN thu được; etanol 70%; túi zip nylon; tấm vải lọc; giấy lọc. Các thành phần này được sử dụng trong phương pháp theo những tỷ lệ % thích hợp, nên đạt hiệu quả cao.

Trong đó, muối NaCl sẽ giúp thu được lượng ADN nhiều hơn. Do ADN là phân tử phân cực có gốc phosphat mang điện tích âm, có khả năng liên với các cation (Na^+) của dung dịch muối, trung hòa điện tích của phân tử ADN, làm cho các phân tử ADN có thể kết dính với nhau thay vì đẩy nhau, khi gặp cồn chúng dễ dàng bị kết tủa và được đẩy lên trên dưới tác dụng của các lực vật lí.

Dung dịch phá màng tế bào và màng nhân có chứa thành phần chính natri dodexyl sulfat là chất tẩy hoạt động bề mặt lưỡng tính, vì mang điện tích nên chất tẩy ion hóa có thể phá vỡ liên kết ion và liên kết hydro, có tác dụng biến tính hoàn toàn protein do chất này liên kết với tất cả các nhóm R của protein, phá hủy màng lipid kép của tế bào và nhân bằng cách xen vào giữa hai lớp phospholipit kép, đồng thời cũng phân hủy các protein gắn kết với ADN. Tạo điều kiện cho việc kết tủa và cô lập ADN ở các bước kế tiếp.

Trong đó, theo một phương án ưu tiên, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân là hỗn hợp chứa thành phần chính là natri dodexyl sulfat.

Trong một phương án ưu tiên, ngoài thành phần chính natri dodexyl sulfat, dung dịch phá màng tế bào và nhân còn bao gồm thêm các thành phần axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng (liner alkyl benzene sulfonic acid - LAS) có tác dụng là chất hoạt động bề mặt và nhũ hóa, NaOH có tác dụng cân bằng độ pH, và cocamidopropyl betaine là chất nhũ hóa, ổn định bọt.

Enzym bromelain có chứa nhóm sulfurhydryl giúp thủy giải các protein histon gắn trên phân tử ADN, tạo thuận lợi cho việc thu hồi ADN tinh sạch.

Diphenylamin được sử dụng để nhận biết sự có mặt của ADN với phản ứng màu đặc trưng. Thuốc thử diphenylamin 0,5% được pha trong axit sulfuric đậm đặc. Dùng kim mũi mác hoặc que tre nhẹ nhàng vớt một phần kết tủa màu trắng cho vào ống nghiệm có chứa 10ml diphenylamin, đun cách thủy trong khoảng 10 phút sẽ thấy xuất hiện màu xanh lam chứng minh mẫu kết tủa thu được là ADN.

Etanol 70% là chất kết tủa phân tử ADN.

Theo đó, theo một phương án, phương pháp tách chiết ADN từ các tế bào chuối sứ hoặc hành tây theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước sau:

- a) Chuẩn bị nguyên liệu bằng cách cho chuối hoặc hành tây đã được cắt nhỏ vào túi zip, dùng tay hoặc chày nghiền nguyên liệu có bổ sung lượng dung dịch muối NaCl 0,9% bằng với lượng mẫu.
- b) Lọc dịch chiết thu được ở bước trên bằng vải lọc.
- c) Ủ enzym bromelain 2.000 IU/g trong nước ấm 45 – 55°C hoặc nước máy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2-5 phút rồi lọc lấy dịch chiết.
- d) Cho dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa dịch chiết chuối hoặc hành tây thu được ở bước b, khuấy nhẹ.
- e) Phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng cách bổ sung dịch chiết chứa enzym bromelain thu được ở bước c vào cốc chứa dung dịch thu được ở bước d.
- g) Tách chiết các phân tử ADN bằng cách rót từ từ etanol 70% lên thành cốc mà có chứa dịch chiết ở bước e rồi để yên cho tới khi thấy những sợi màu trắng đục kết tủa dạng các búi lớn và nổi lên trên, dùng kim mũi mác hoặc que tre vớt các búi kết tủa màu trắng này để thu được các phân tử ADN.
- h) Kiểm tra sản phẩm thu được bằng cách cho phần kết tủa trắng này vào ống nghiệm có chứa nước, nhỏ thêm dung dịch diphenylamin pha trong H₂SO₄ đậm đặc vào ống nghiệm, đun sôi cách thủy, nếu xuất hiện màu xanh lam thì sản phẩm tách chiết được chính là ADN của chuối sứ hoặc hành tây.

Theo một phương án khác, phương pháp tách chiết ADN từ tế bào chuối, hành tây bao gồm các bước, trong đó các hóa chất dưới đây được lấy theo tỷ lệ so với nguyên liệu chuối sứ hoặc hành tây:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách cho 50g chuối sứ, hoặc 50g hành tây, vào túi zip, nghiền nhỏ cùng với 20ml dung dịch muối NaCl 0,9%;

b) lọc lấy 30ml dịch chiết từ chuối, hoặc hành tây, vừa nghiền ở bước trên bằng vải lọc;

c) ủ 5g enzym bromelain 2.000 IU/g trong 50ml nước ấm ở nhiệt độ khoảng 45-55°C hoặc nước máy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2-5 phút, sau đó lọc lấy dịch chiết;

d) cho 10ml dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa 30ml dịch chiết chuối hoặc hành tây thu được ở bước b, khuấy nhẹ trong khoảng 2-5 phút;

e) phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng cách bổ sung 5-10ml dịch chiết chứa enzym bromelain thu được ở bước c vào cốc chứa dung dịch thu được ở bước d;

g) tách chiết các phân tử ADN bằng cách rót từ từ 100ml etanol 70% lên thành cốc mà có chứa dịch chiết ở bước e rồi để yên cho đến khi thấy những sợi màu trắng đục kết tủa dạng các búi lớn và nổi lên trên, dùng kim mũi mác hoặc que tre vớt các búi kết tủa màu trắng này để thu được các phân tử ADN; và

h) kiểm tra sản phẩm thu được bằng cách cho phân kết tủa trắng này vào ống nghiệm có chứa sẵn 5ml nước, nhỏ thêm 5ml dung dịch diphenylamin pha trong H₂SO₄ đậm đặc vào ống nghiệm, đun sôi cách thủy trong khoảng 10 phút, nếu xuất hiện màu xanh lam thì sản phẩm phân tách chiết được chính là ADN của chuối sứ hoặc hành tây.

Theo một phương án ưu tiên, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân sử dụng ở bước d là hỗn hợp chứa thành phần chính là natri dodexyl sulfat.

Theo một phương án cụ thể, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân sử dụng ở bước d là hỗn hợp bao gồm các thành phần: natri dodexyl sulfat, axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng; NaOH; cocamidopropyl betaine; và nước.

Phương pháp tách chiết ADN theo giải pháp hữu ích giúp cho việc tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sù, hành tây rất hiệu quả nhưng lại dễ sử dụng với chi phí thấp, tách ADN với thời gian rất ngắn, sử dụng các dụng cụ đơn giản. Đặc biệt có bổ sung phần nhận biết phân tử ADN thu được bằng dung dịch diphenylamin. Phương pháp này có thể sử dụng để tách chiết ADN với nhiều mẫu vật khác như xoài, dâu tây, đu đủ, gan gà, gan heo, v.v.. Vì lý do đó, phương pháp đặc biệt thích hợp để sử dụng cho các thí nghiệm môn Sinh vật ở các trường THCS và THPT.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây là phần mô tả chi tiết giải pháp hữu ích. Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp tách chiết ADN để tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sù, hành tây, trong đó sử dụng các thành phần sau:

- dung dịch muối NaCl 0,9%;
- dung dịch phá màng tế bào và màng nhân;
- enzym bromelain 2.000 IU/g 10% pha trong nước;
- dung dịch diphenylamin 0,5% pha trong H₂SO₄ đậm đặc (98-99,9%);
- etanol 70%;
- túi zip nilon;
- vải lọc;
- giấy lọc.

Theo một phương án ưu tiên, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân chứa thành phần chính là natri dodexyl sulfat 5%.

Theo một phương án cụ thể, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân là hỗn hợp gồm có (tính theo % thể tích):

- natri dodexyl sulfat đậm đặc (98-99,9%): 30
- axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng đậm đặc ($\geq 96\%$): 24
- NaOH bão hòa (50%): 3,6
- cocamidopropyl betaine đậm đặc ($\geq 30\%$): 3,6
- và nước: 38,8.

Phương pháp để tách chiết ADN nêu trên được tạo ra với mục đích để tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sủ, hành tây và đặc biệt hữu hiệu để sử dụng trong dạy thực hành thí nghiệm bộ môn Sinh học ở bậc THCS và THPT.

Theo một phương án, phương pháp tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sủ hoặc hành tây theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước sau:

- a) Chuẩn bị nguyên liệu bằng cách cho chuỗi hoặc hành tây đã được cắt nhỏ vào túi zip, dùng tay hoặc chày nghiền nguyên liệu có bổ sung lượng dung dịch muối NaCl 0,9% bằng với lượng mẫu.
- b) Lọc dịch chiết thu được ở bước trên bằng vải lọc.
- c) Ủ enzym bromelain 2.000 IU/g trong nước ấm 45 – 55°C hoặc nước máy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2-5 phút rồi lọc lấy dịch chiết.
- d) Cho dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa dịch chiết chuỗi hoặc hành tây thu được ở bước b, khuấy nhẹ.
- e) Phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng cách bổ sung dịch chiết chứa enzym bromelain thu được ở bước c vào cốc chứa dung dịch thu được ở bước d.
- g) Tách chiết các phân tử ADN bằng cách rót từ từ etanol 70% lên thành cốc mà có chứa dịch chiết ở bước e rồi để yên cho tới khi thấy những sợi màu trắng đục kết tủa dạng các búi lớn và nổi lên trên, dùng kim mũi mác hoặc que tre vớt các búi kết tủa màu trắng này để thu được các phân tử ADN.
- h) Kiểm tra sản phẩm thu được bằng cách cho phần kết tủa trắng này vào ống nghiệm có chứa nước, nhỏ thêm dung dịch diphenylamin pha trong H₂SO₄ đậm đặc vào ống nghiệm, đun sôi cách thủy, nếu xuất hiện màu xanh lam thì sản phẩm tách chiết được chính là ADN của chuỗi sủ hoặc hành tây.

Theo một phương án khác, phương pháp tách chiết ADN từ tế bào chuỗi, hành tây theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước sau, trong đó các hóa chất dưới đây được lấy theo tỷ lệ so với nguyên liệu chuỗi sủ hoặc hành tây:

- a) Chuẩn bị nguyên liệu bằng cách cho 50g chuỗi sủ, hoặc 50g hành tây, vào túi zip, dùng tay hoặc chày nghiền nhỏ cùng với 20ml dung dịch muối NaCl 0,9%.

b) Lọc lấy 30ml dịch chiết từ chuối, hoặc hành tây, vừa nghiền ở bước trên bằng vải lọc.

c) Ủ 5g enzym bromelain 2.000 IU/g trong 50ml nước ấm ở nhiệt độ khoảng 45-55°C hoặc nước máy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2-5 phút, sau đó lọc bằng giấy lọc lấy dịch chiết.

d) Cho 10ml dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa 30ml dịch chiết chuối hoặc hành tây thu được ở bước b, khuấy nhẹ trong khoảng 2-5 phút.

e) Phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng cách bổ sung 5-10ml dịch chiết chứa enzym bromelain thu được ở bước c vào cốc chứa dung dịch thu được ở bước d.

g) Tách chiết các phân tử ADN bằng cách rót từ từ 100ml etanol 70% lên thành cốc mà có chứa dịch chiết ở bước e rồi để yên cho tới khi thấy những sợi màu trắng đục kết tủa dạng các búi lớn và nổi lên trên, dùng kim mũi mác hoặc que tre vớt các búi kết tủa màu trắng này để thu được các phân tử ADN. và

h) Kiểm tra sản phẩm thu được bằng cách cho phần kết tủa trắng này vào ống nghiệm có chứa sẵn 5ml nước, nhỏ thêm 5ml dung dịch diphenylamin pha trong H_2SO_4 đậm đặc vào ống nghiệm, đun sôi cách thủy trong khoảng 10 phút, nếu xuất hiện màu xanh lam thì sản phẩm tách chiết được chính là ADN của chuối sứ hoặc hành tây.

Theo một phương án ưu tiên, dung dịch phá màng tế bào được sử dụng ở bước d chứa thành phần chính là natri dodexyl sulfat.

Theo một phương án cụ thể, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân là hỗn hợp gồm có (tính theo % thể tích):

natri dodexyl sulfat đậm đặc: 30

axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng đậm đặc: 24

NaOH bão hòa: 3,6

cocamidopropyl betaine đậm đặc: 3,6

và nước: 38,8.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến bộ kit tách chiết ADN để sử dụng cho phương pháp nêu trên, bộ kit này gồm có:

- 100ml dung dịch muối NaCl 0,9%;
- 20ml dung dịch phá màng tế bào và màng nhân;
- 10g enzym bromelain 2.000 IU/g;
- 20ml dung dịch diphenylamin 5% pha trong H₂SO₄ đậm đặc;
- 100ml etanol 70%;
- 05 túi zip nilon;
- 05 tấm vải lọc;
- 05 tấm giấy lọc.

Theo một phương án của bộ kit, dung dịch phá màng tế bào và màng nhân là hỗn hợp gồm có thành phần chính là natri dodexyl sulfat.

Theo một phương án của bộ kit, trong đó 20ml dung dịch phá màng tế bào và màng nhân là hỗn hợp gồm có (tính theo % thể tích):

- natri dodexyl sulfat đậm đặc: 30
- axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng đậm đặc: 24
- NaOH bão hòa: 3,6
- cocamidopropyl betaine đậm đặc: 3,6
- và nước: 38,8.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Phương pháp tách chiết ADN theo giải pháp hữu ích giúp cho việc tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sủ, hành tây rất hiệu quả nhưng lại dễ sử dụng với chi phí thấp, tách ADN với thời gian rất ngắn, sử dụng các dụng cụ đơn giản. Đặc biệt có bổ sung phần nhận biết phân tử ADN thu được bằng dung dịch diphenylamin. Phương pháp này có thể sử dụng để tách chiết ADN với nhiều mẫu vật khác như xoài, dâu tây, đu đủ, gan gà, gan heo, v.. Vì lý do đó, phương pháp đặc biệt thích hợp để sử dụng cho các thí nghiệm môn Sinh vật ở các trường THCS và THPT.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp tách chiết ADN từ các tế bào chuỗi sù hoặc hành tây bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách cho chuỗi hoặc hành tây đã được cắt nhỏ vào túi zip, dùng tay hoặc chày nghiền nguyên liệu có bổ sung lượng dung dịch muối NaCl 0,9% bằng với lượng mẫu;
- b) lọc dịch chiết thu được ở bước trên bằng vải lọc;
- c) ủ enzym bromelain 2.000 IU/g trong nước ấm 45 – 55°C hoặc nước máy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2-5 phút rồi lọc lấy dịch chiết;
- d) cho dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa dịch chiết chuỗi hoặc hành tây thu được ở bước b), khuấy nhẹ,
trong đó dung dịch phá màng tế bào là hỗn hợp bao gồm (tính theo % thể tích):

natri dodexyl sulfat đậm đặc: 30

axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng đậm đặc: 24

NaOH bão hòa: 3,6

cocamidopropyl betaine đậm đặc: 3,6

và nước: 38,8;

- e) phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng cách bổ sung dịch chiết chứa enzym bromelain thu được ở bước c) vào cốc chứa dung dịch thu được ở bước d);

g) tách chiết các phân tử ADN bằng cách rót từ từ etanol 70% lên thành cốc mà có chứa dịch chiết ở bước e) rồi để yên cho tới khi thấy những sợi màu trắng đục kết tủa dạng các búi lớn và nổi lên trên, dùng kim mũi mác hoặc que tre vớt các búi kết tủa màu trắng này để thu được các phân tử ADN; và

h) kiểm tra sản phẩm thu được bằng cách cho phân kết tủa trắng này vào ống nghiệm có chứa nước, nhỏ thêm dung dịch diphenylamin pha trong H₂SO₄ đậm đặc vào ống nghiệm, đun sôi cách thủy, nếu xuất hiện màu xanh lam thì sản phẩm tách chiết được chính là ADN của chuỗi sù hoặc hành tây.

2. Phương pháp tách chiết ADN theo điểm 1, bao gồm các bước, trong đó các hóa chất dưới đây được lấy theo tỷ lệ so với nguyên liệu chuối sứ hoặc hành tây:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách cho 50g chuối sứ, hoặc 50g hành tây, vào túi zip, nghiền nhỏ cùng với 20ml dung dịch muối NaCl 0,9%;

b) lọc lấy 30ml dịch chiết từ chuối, hoặc hành tây, vừa nghiền ở bước trên bằng vải lọc;

c) ủ 5g enzym bromelain 2.000 IU/g trong 50ml nước ấm ở nhiệt độ khoảng 45-55°C hoặc nước máy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2-5 phút, sau đó lọc lấy dịch chiết;

d) cho 10ml dung dịch phá màng tế bào vào cốc chứa 30ml dịch chiết chuối hoặc hành tây thu được ở bước b), khuấy nhẹ trong khoảng 2-5 phút,

trong đó dung dịch phá màng tế bào là hỗn hợp bao gồm (tính theo % thể tích):

natri dodexyl sulfat đậm đặc: 30

axit alkyl benzen sulfonic mạch thẳng đậm đặc: 24

NaOH bão hòa: 3,6

cocamidopropyl betaine đậm đặc: 3,6

và nước: 38,8;

e) phân giải các phân tử protein bám trên ADN bằng cách bổ sung 5-10ml dịch chiết chứa enzym bromelain thu được ở bước c) vào cốc chứa dung dịch thu được ở bước d);

g) tách chiết các phân tử ADN bằng cách rót từ từ 100ml etanol 70% lên thành cốc mà có chứa dịch chiết ở bước e) rồi để yên cho đến khi thấy những sợi màu trắng đục kết tủa dạng các búi lớn và nổi lên trên, dùng kim mũi mác hoặc que tre vớt các búi kết tủa màu trắng này để thu được các phân tử ADN; và

h) kiểm tra sản phẩm thu được bằng cách cho phần kết tủa trắng này vào ống nghiệm có chứa sẵn 5ml nước, nhỏ thêm 5ml dung dịch diphenylamin pha

trong H_2SO_4 đậm đặc vào ống nghiệm, đun sôi cách thủy trong khoảng 10 phút, nếu xuất hiện màu xanh lam thì sản phẩm phân tách chiết được chính là ADN của chuối sứ hoặc hành tây.