ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷
صفحه ۳۰۶ - ۳۰۱

معرفی یک دستگاه کاربردی برای تخلیص ژن از ژل آگارز: خالص‌سازی و همسانه‌سازی ژن *HMGR* از جنسینگ آمریکایی

Introduction of an applied device for DNA purification from Agarose gel: purification and cloning of *HMGR* gene from American ginseng plant

کژوان ساعد موچشی[۱]، علی ایزدی‌دربندی*[۱]، نامجو ساعد موچشی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان،دانشگاه تهران

۲- دانشجو کارشناسی، اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

Saaed Mocheshi KS[1], Izadi Darbandi A*[1], Saaed Mocheshi N[2]

1- Master of Biotechnology, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences of University of Tehran - Abureyhan Campus

2- Bachelor of Plant breeding Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences of University of Kurdistan- Faculty of Agriculture

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: aizady@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۹ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۵)

چکیده

به‌منظور همسانه‌سازی ژن، ابتدا باید ژن موردنظر از سایر آلودگی‌ها (پروتئین، باندهای غیرتخصصی و پرایمردایمرها و ...) جدا شود. خالص‌سازی ژن موردنظر از سایر آلودگی‌های با روش‌های شیمیایی و فیزیکی مختلفی قابل انجام است. در این پژوهش برای اولین بار، ژن هدف موجود در بافر TAE.1X با استفاده از یک روش فیزیکی با کمک میدان الکتریکی جداسازی شد. ژن *PqHMGR* (FJ755158.1) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی طراحی‌شده از توالی‌های cDNA گیاه جنسینگ (*Panax quinquefolius*) توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر شد. الحاق ژن خالص‌سازی‌شده به پلاسمید حامل PTG-19 و همسانه‌سازی آن در باکتری E.coli سویه DH5α با موفقیت انجام شد. در نهایت ژن *PqHMGR* توسط دستگاه و روش معرفی شده به‌خوبی خالص‌سازی و همسانه‌سازی شد و پلاسمید نوترکیب، به‌منظور تائید موفق بودن همسانه‌سازی توالی‌یابی شد.

واژه‌های کلیدی

ژل آگارز
خالص‌سازی ژن از ژل
PqHMGR

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.13.2]

به‌منظور اتصال ژن به پلاسمید در فرایند همسانه‌سازی، ابتدا باید باند تخصصی تکثیرشده مورد نظر (قطعه‌ای از DNA و یا RNA که توسط روش واکنش چرخه‌ای پلی‌مرازی و یا واکنش رونویسی معکوس زنجیره‌ای پلیمرازی تکثیر شده‌است) از سایر ژن‌های غیر هدف، پرایمر دایمرها و آلودگی‌های دیگر جدا شود تا اینکه کمیت و کیفیت مطلوب را به‌دست آورد. همیشه خالص‌سازی باند تکثیرشده از ژل آگارز وقت‌گیر و پرزحمت بوده است و به‌طور معمول با کاهش میزان کمیت DNA همراه است (Boom et al. 1990). علاوه بر این بعضی از مشکل‌های مربوط به جداسازی قطعه‌های DNA از ژل آگارز (کاهش عملکرد، تغییرهای DNA و ...) به‌طور رضایت‌بخشی حل نشده است (Robert et al. 1976). به‌منظور خالص‌سازی باندهای DNA از ژل آگارز و سایر آلودگی‌ها، از عواملی مانند نمک‌های NaI، NaClO4، سیلیکا، قطعه‌ها و دانه‌های ریز شیشه‌ای استفاده می‌شود (Marko et al. 1982; Voglestein et al. 1979; yang et al. 1979). انواع مختلف از روش‌های استخراج ژن از ژل آگارز وجود دارد که بعضی از آن‌ها شامل ۱- تخلیص DNA با استفاده از روش شیمیایی فنول/کلروفرم (Sambrook et al. 1989). ۲- استفاده از روش کروماتوگرافی تعویض یون[1] با استفاده از رزین دارای بار مثبت دی‌اتیل‌آمینواتیل- سلولز[2] (Sambrook et al. 1989; Yang et al. 1979) ۲- استفاده از روش انتقال ژن با استفاده از دی‌اتیل‌آمینواتیل- سفاسل[3] (Sambrook et al. 1989). ٤- استفاده از مهره‌های شیشه‌ای (Ausubel et al. 1995). ٥- روش freeze-squeeze (Thuring et al. 1975). ٦- روش حل کردن ژل با پتاسیم یدید (Blin et al. 1975) ۷- روش electroelution (Wienand et al. 1978). ۸- روش ß-Agarase (Chong et al. 1994). ۹- روش رسوب توسط اتانول[4] (Sambrook et al. 1989) و ... است؛ که هر کدام از این روش‌های استخراج ژن از ژل دارای مزیت‌ها و معایب خاصی هستند. کاهش مقدار DNA در طی خالص‌سازی، در مورد انواع کیت‌های تجاری نیز مشاهده شده‌است (Sulaiman et al. 2005; Feng et al. 2007). در این پژوهش به‌منظور استخراج ژن از ژل آگارز از ژن *PqHMGR* استفاده شده‌است. به‌منظور استخراج ژن از ژل آگارز از یک دستگاه شبه‌الکتروفورز و استفاده از میدان الکتریکی درون مایع TAE.1X استفاده شده است (Wu et al. 2010). در نهایت همسانه‌سازی ژن استخراج‌شده درون TAE.1X حل‌شده؛ توسط باکتری E.Coli انجام شد.

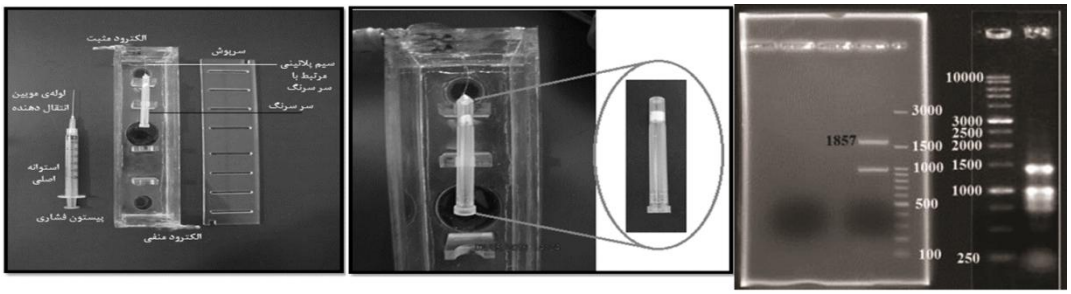
استخراج RNA از برگ‌های گیاه جنسینگ (مقدار ۰/۰۵ تا ۰/۱ گرم) سه- ساله رشدیافته در گلخانه پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، توسط mLit ۱ از عامل ترایزول (Trizol reagent Invitrogen USA) انجام شد. تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراجی با استفاده از اسپکتروفتومتر (PerkinElmer Lamda 25 Spectrophotometer) و اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۲۳۰، ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر و انجام الکتروفورز توسط ژل آگارز ۰/۸ درصد در بافر تریس‌بورات انجام شد. در نهایت آشکارسازی RNA استخراجی توسط رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم‌بروماید و مشاهده در زیر دستگاه ژل‌داک انجام شد. طراحی آغازگر رفت (TM= ٥۹/۳۸°C) 5′TCCCATAGTTGCCAACCTCC3′ و آغازگر معکوس 5′ ACCACACCACCATCTATCCTC 3′ (TM = ٥۸/۸۸°C) بر روی توالی ژن *PqHMGR* (با شماره‌سریال FJ755158.1) با استفاده از نرم‌افزار Primer 3 انجام شد. به‌منظور سنتز cDNA از ۲ میکروگرم از RNA استخراج‌شده در حجم کلی ۲۰ میکرولیتر از مخلوط واکنش و بر طبق دستورالعمل واکنش رونویسی معکوس زنجیره‌ای پلیمراز (RT-PCR) کیت شرکت سیناکلون در یک دستگاه ترموسایکلر[5] (شرکت BIO RAD مدل My Cycler) و تحت شرایط دمایی ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس قرار گرفتن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ دقیقه انجام شد. برنامه پی‌سی‌آر برای تولید رشته دوم در حجم کلی ۲۰ میکرولیتر طبق دستورالعمل کیت مخلوط پی‌سی‌آر و تحت شرایط زیر انجام شد: واسرشته‌سازی اولیه ٥ دقیقه در ۹٤ درجه سانتی‌گراد، واسرشته‌سازی ثانویه ۱ دقیقه در ۹٤ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال ۱ دقیقه در دمای ٥٥ درجه سانتی‌گراد، بسط اولیه ۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، بسط ثانویه ٥ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. تصویر cDNA سنتز شده به‌صورت

[1] Ion Exchange Chromatography
[2] Diethylaminoethyl–cellulose (DEAE-cellulose)
[3] Diethylaminoethyl–Sephacel (DEAE-sephacel)
[4] Ethanol Precipitation
[5] Thermo cycler

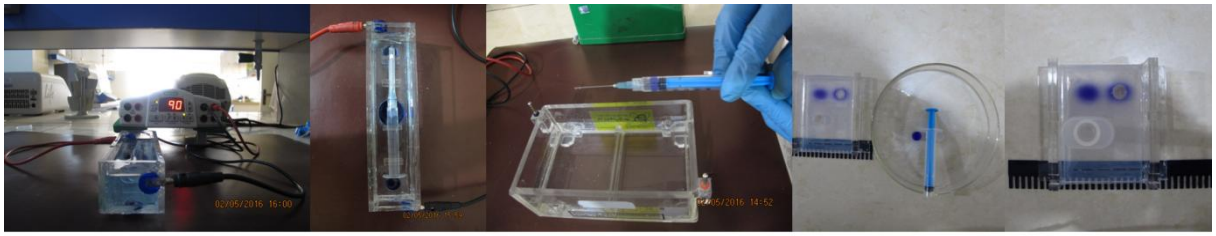
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.13.2]

عادی و همراه با تکثیر توسط آغازگرهای رفت5′ggtcgcacaactggtattgtattg3′ و برگشت 5′ctcagcagaggtggtgaaca3′ اکتین تأیید شد و سپس بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد انتقال داده شد. اجزای دستگاه استخراج ژن از ژل در قسمت‌های C و D شکل ۱ نشان داده شده‌است. توجه شود که در این آزمایش و جهت آزمون دستگاه موردنظر، از استخراج ژن *PqHMGR* استفاده شد. مراحل کار با این دستگاه به این شرح است: ۱- ابتدا حدود ٦٠-٥٠ میکرولیتر از محصول پی‌سی‌آر درون ژل آگارز ۱ درصد تحت جریان الکتروفورز قرار گرفت. ۲- سپس از یک استوانه سرنگ (با دهانه برش‌خورده) به‌منظور برش محل قرارگیری ژن موردنظر درون ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. ۳- در مرحله بعد ژل برش‌خورده درون ظرف حاوی مایع TAE.1X قرار گرفت تا اینکه قطعه ژلی توسط بافر TAE.1X اشباع شود. ٤- با استفاده از کشیدن پیستون سرنگ، استوانه اصلی سرنگ از مایع TAE.1X اشباع شد. ٥- ژل برش‌خورده درون استوانه اصلی سرنگ قرار داده شد و سپس توسط پیستون سرنگ، ژل به قسمت ابتدایی استوانه اصلی سرنگ انتقال یافت. (توجه شود که در حین انجام این کار باید مایع TAE.1X از نک سوزن سرنگ خارج شود؛ تا زمانی که ۲۰۰ میکرولیتر از TAE.1X درون استوانه اصلی سرنگ باقی بماند). ٦- سپس با فشار دادن ژل توسط پیستون فشاری، حدود ۱۰۰ میکرولیتر از مایع TAE.1X درون استوانه اصلی از طریق سوزن سرنگ به داخل محفظه ۱۰۰ میکرولیتری سرسرنگ (جایی که امتداد سیم پلاتینی قطب مثبت درون این محفظه قرار دارد) انتقال یافت. ۷- با حفظ ژل در جایگاه خود، پیستون فشاری از استوانه سرنگ خارج شده و بعد از اینکه استوانه سرنگ در حالت افقی درون تانک دستگاه قرار گرفت؛ مایع TAE.1X به داخل تانک دستگاه (تا زمانی‌که داخل استوانه اصلی و تا بالای سطح استوانه از این مایع اشباع شود) اضافه شد. ۸- سپس الکترودهای مربوط به سیم‌های قطب منفی و مثبت به منبع ولتاژ وصل شد و ژن داخل قطعه ژلی با ولتاژ ۷۵ ولت و شدت جریان ٤۰۰ میلی‌آمپر به مدت ۷ دقیقه تحت جریان الکتروفورز قرار گرفت؛ تا اینکه که ژن درون قطعه ژلی به درون مایع TAE.1X درون محفظه ۱۰۰ میکرولیتری سرسرنگ انتقال یابد. به‌منظور افزایش غلظت ژن استخراج‌شده، بعد از استخراج ژن (استخراج ژن از ژل و انتقال به ۱۰۰ میکرولیتر مایع TAE.1X سرسرنگ)، از قطعه‌های ژلی دیگر حاوی همان ژن به‌منظور استخراج و افزایش غلظت ژن موردنظر درون همان بافر TAE.1X حاوی ژن استخراجی قبلی می‌توان استفاده کرد. ۹- در نهایت توسط سمپلیر ۱۰۰ میکرولیتری ژن خالص‌سازی‌شده درون TAE.1X به داخل تیوب ۰/۵ میکرولیتر انتقال یافت. مراحل کار با دستگاه استخراج ژن از ژل آگارز به روش الکتروفورز در شکل ۲ نشان داده شده‌است. سه میکرولیتر از محصول PCR شسته شده از ژل با استفاده از کیت شرکت فرمنتاز به پلاسمید حامل PTG-19 (شرکت SinaClone) متصل شده و سپس به سلول‌های مستعد از باکتری اشرشیاکلی (E.coli) سویه DH5α (توسط $CaCl_2$ تیمار شده‌است) انتقال داده شد. نوترکیب‌ها از طریق غربالگری کلنی‌های سفید از میان کلنی‌های آبی توسط روش انتخاب کلنی سفید و آبی انتخاب شدند. حضور قطعه درج شده در تک کلنی‌های سفید با روش هضم آنزیمی توسط آنزیم *BamH I* تایید شد و از توالی آغازگر M13 رفت‌وبرگشت خود توالی DNA پلاسمید به‌منظور توالی‌یابی در شرکت Bioneer استفاده شد. RNA استخراجی از برگ گیاه جنسینگ آمریکایی دارای غلظت ۵۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر (قسمت A شکل ۱) و کیفیت آن: در مورد نسبت ۲٦۰/۲۸۰ و ۲٦۰/۲۳۰ به‌ترتیب برابر با ۱/۹ و ۲ بود. باند ژن *PqHMGR* تکثیرشده از گیاه جنسینگ آمریکایی به‌طول bp ۱۸۵۷ و با غلظت ۷۸/۰۳ ngr/µLit همراه با باند غیرتخصصی در حدود bp ۱۰۰۰ بود. در نهایت ژن *PqHMGR* تکثیرشده به روش الکتروفورز از ژل آگارز ۱ درصد استخراج شد (قسمت A شکل ۳) و به‌منظور تعیین کمیت و کیفیت آن به ژل آگارز ۱/۵ درصد انتقال یافت و همچنین غلظت آن توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد که برابر با ۷۰/۲۳ ngr/µLit بود. قسمت B و C شکل ۳ ظهور تک کلون‌های ژن استخراجی *PqHMGR* بر روی محیط LB جامد حاوی آمپی‌سیلین و تکثیر هر کدام از این تک کلون‌ها را بر روی همین محیط نشان می‌دهد. قسمت D شکل ۳ تکثیر هر کدام از این تک کلون‌های تکثیر شده بر روی محیط LB جامد حاوی آمپی‌سیلین، X-gal، IPTG را نشان می‌دهد.

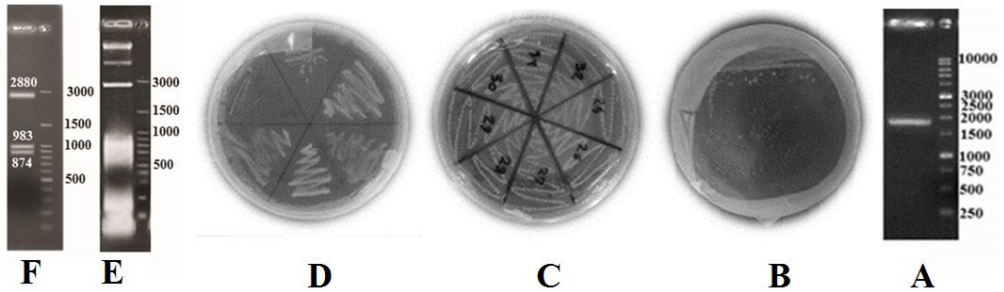
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.13.2]



شکل ۱- A: RNA استخراج شده از برگ گیاه جنسینگ. B: باند تخصصی مربوط به قسمتی از ژن *PqHMGR* به‌طول ۱۸۵۷ جفت‌باز و باند غیرتخصصی در حدود ۱۰۰۰ جفت‌باز.C و D: قطعه‌ها و اجزاء دستگاه طراحی‌شده به‌منظور استخراج ژن از ژل آگارز به روش الکتروفورز.



شکل ۲- مراحل استخراج ژن *PqHMGR* از ژل آگارز به روش الکتروفورز.



شکل ۳- A: ژن *PqHMGR* که به روش الکتروفورز خالص‌سازی شده و بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری شده‌است. B: گرفتن تک کلون‌های نوترکیب بر روی محیط LS حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین. C: تکثیر هر کدام از تک کلون‌های تکثیر شده بر روی محیط LS دارای آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین. D: ظهور کلون‌های سفید-آبی بر روی محیط کشت LS حاوی X-gal, IPTG و آمپی‌سیلین. E: پلاسمید استخراج شده از کلون‌های سفید نوترکیب (باندها به‌ترتیب از بالا به پایین: DNA دو رشته‌ای، DNA شکسته، DNA سوپرکویل) F: پلاسمید استخراجی برش خورده با آنزیم *BamH I* (پلاسمید خطی شده: bp ۲۸۸۰، برش در داخل ژن *PqHMGR* توسط آنزیم *BamH I* و تولید دو قطعهbp : ۹۸۳ و bp ۸۷٤).

بعد از گزینش کلون‌های سفید نوترکیب از سایر کلون‌های آبی، به‌منظور شناسایی کلون‌های سفید دارای قطعه موردنظر، استخراج پلاسمید از این کلون‌های سفید انجام گرفت. باندهای پلاسمید استخراجی دارای سه باند DNA سوپرکویل، خطی و دو رشته‌ای است (قسمت E شکل ۳). قسمت F شکل ۳ باندهای حاصل از برش پلاسمید با آنزیم *BamH I* را نشان می‌دهد که شامل یک پلاسمید خطی و دو قطعه برش‌خورده *PqHMGR* (برش *BamH I* در داخل خود توالی) را نشان می‌دهد. بعضی از پرکاربردترین روش‌های استخراج ژن از ژل آگارز و یا محلول پی‌سی‌آر شامل ۱- روش Silica/Guanidinium salt) در این روش میزان عملکرد استخراج ۸۰- ۹۰ درصدی (برای محلول) و ۸۰ درصدی (برای ژل آگارز) در مدت‌زمان حدود ۵ دقیقه (برای محلول) و ٦۰ دقیقه (برای آگارز) به‌دست آمده است. مزیت‌های این روش شامل حذف آلودگی‌ها با کمترین زمان و با انجام یک مرحله است و اما

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.13.2]

عیب آن شامل امکان شکستگی قطعه‌های نوکلئیک‌اسید (در اندازه‌های بالاتر از ۵ Kbp) است (Ausubel et al. 1998). ۲- روش Filter cartridges in combination with frezing or without freezing) در این روش میزان عملکرد استخراج بالای ۹۵ درصدی در مدت‌زمان حدود ۲-۵ دقیقه به‌دست آمده است. این روش دارای مزیت سرعت عمل بالا و افزایش غلظت خود نمونه به‌همراه دفع نمک‌های آلوده است و تنها عیب آن عدم حذف آلودگی‌های بزرگ مانند پروتئین‌هاست (leonard et al. 1998). ۳- روش ethanol or isopropanol precipitation) در این روش میزان عملکرد استخراج بالای ۹۵ درصدی در مدت زمان حدود ۲۰ دقیقه تا یک شبانه‌روز (بستگی به غلظت نمونه استخراجی) به‌دست آمده است. این روش دارای مزیت‌های ۱- قابل روئیت‌بودن پلیت خالص‌سازی شده. ۲- عملکرد بالا ۳- تنوع استفاده با سایر نمک‌های استخراجی است و معایب آن شامل ۱- زمان‌گیر و مشکل‌بودن برای استفاده هم‌زمان چند نمونه با همدیگر. ۲- امکان از دست رفتن پلیت و در نهایت عدم امکان حذف آلودگی‌هاست (Ausubel et al. 1998; Sambrook Fritsch et al. 1989). ٤- روش Electroelution) در این روش میزان عملکرد استخراج بالای ۹۵ درصدی (در قطعه‌های کمتر از ۱Kbp) و ٦٠-۵٠ درصدی (در قطعه‌های خیلی کوچک) و کمتر از ۲۰ درصدی (در قطعه‌های بزرگ) در مدت‌زمان حدود ۱۲۰-۲٤٠ و یا ٦٠- ۱۸۰ (به‌منظور حل کردن درون مایع DEAE) به‌دست آمده است؛ این روش دارای مزیت‌های ۱- غیرسمی‌بودن. ۲- عملکرد بالا برای خالص‌سازی است و معایب آن شامل ۱- امکان روئیت سخت باند خالص‌سازی شده. ۲- مورد استفاده‌بودن تنها برای قطعه‌های ۲۰Kbp-۰/۰۵ است. در روش استخراج ژن توسط جریان الکتریکی، حدود ۹۰ درصد ژن از ژل آگارز را بدون ایجاد شکستگی در مورد قطعه‌های ژنی با اندازه‌های مختلف می‌توان بازیافت کرد. همچنین این روش قابلیت افزایش میزان کمیت باند خالص‌سازی شده با استفاده مکرر از چند قطعه ژل آگارز حاوی یک نوع باند ژنی (مورد استفاده در تعدادی زیادی نمونه در زمان کوتاه) را امکان‌پذیر ساخته است. با توجه به اینکه در این روش به‌جای آب دو بار تقطیر (مایع فاقد غلظت نمکی) از مایع TAE.1X برای حل‌کردن ژن خالص‌سازی شده از ژل استفاده شد؛ بنابراین لازم بود که مراحل بعد از خالص‌سازی ژن یعنی اتصال ژن به پلاسمید باکتریایی به‌منظور انجام همسانه‌سازی آزمایش می‌شد که با آزمایش انجام‌گرفته مشخص شد که استفاده از TAE.1X به‌جای آب‌مقطر مشکلی را در ایجاد اتصال ژن به پلاسمید باکتریایی لازم برای همسانه‌سازی ایجاد نمی‌کند.

منابع

Ausubel FM (1995) Current Protocols in Molecular Biology, Red Book, Wiley and Son. Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith, JA, and Struhl, K. (1998). Current Protocols in Molecular Biology. Whiley and Sons. New York.

Blin, N, Gabain, AV, Bujard, H (1975) Isolation of large molecular weight DNA from agarose gels forfurther digestion by restriction enzymes. FEBS letters 53:84-86.

Boom RCJA, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen, PM, Van der Noordaa JPME (1990) Rapid and simple method for purification of nucleic acids. Journal of clinical microbiology 28:495-503.

Chong SHA O R O N G, Garcia GA (1994). An oligonucleotide-directed, in vitro mutagenesis method using ssDNA and preferential DNA amplification of the mutated strand. BioTechniques 17:719-20.

Feng Y, Ortega Y, He G, Das P, Xu M, Zhang X, Xiao L (2007) Wide geographic distribution of Cryptosporidium bovis and the deer-like genotype in bovines. Veterinary Parasitology 144:1-9.

Leonard JT, Grace MB, Buzard GS, Mullen MJ, Barbagallo CB (1998) Preparation of PCR products for DNA sequencing. Biotechniques 24:314-317.

Marko MA, Chipperfield R, Birnboim HC (1982) A procedure for the large-scale isolation of highly purified plasmid DNA using alkaline extraction and binding to glass powder. Analytical biochemistry 121:382-387.

Roberts RJ, Murray K (1976) Restriction endonuclease. *CRC* Critical Reviews in Biochemistry 4:123-164.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Ed 2nd. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Sulaiman IM, Hira PR, Zhou L, Al-Ali FM, Al-Shelahi FA, Shweiki HM, Xiao L (2005) Unique endemicity of cryptosporidiosis in children in Kuwait. Journal of Clinical microbiology 43:2805-2809.

Vogelstein B, Gillespie D (1979) Preparative and analytical purification of DNA from agarose. Proceedings of the National Academy of Sciences 76:615-619.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.13.2]

Yang RCA, Lis J, Wu R (1979) Elution of DNA from agarose gels after electrophoresis. In Methods in enzymology (Vol. 68, pp. 176-182). Academic Press.

Thuring RWJ, Sanders JPM, Borst P (1975) A freeze-squeeze method for recovering long DNA from agarose gels. Analytical Biochemistry 66:213-220.

Wienand U, Schwarz Z, Feix G (1979) Electrophoretic elution of nucleic acids from gels adapted for subsequent biological tests. FEBS Letters 98:319-323.

Wu Q, Song J, Sun Y, Suo F, Li C, Luo H, Li X (2010) Transcript profiles of Panax quinquefolius from flower, leaf and root bring new insights into genes related to ginsenosides biosynthesis and transcriptional regulation. Physiologia Plantarum 138:134-149.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.13.2]