


Izolace DNA pomocí Chelexu

Extrakce DNA pomocí Chelexu 100 je velmi používanou metodou ve forenzní genetice pro izolaci DNA z miniaturního množství vzorků (vlasy, krevní stopy, stopy slin). Tato metoda je velmi rychlá a poměrně levná a poskytuje dostatečné množství DNA pro její vyhodnocení pomocí PCR.

Chelex je pryskyřice složená ze styren divinylbenzen kopolyméru obsahující párové iminodiacetátové ionty. Tyto ionty působí chelatačně a váží polyvalentní kovové ionty. Pro izolaci DNA je především důležité vyvazování Mg^{2+} iontů, které jednak jsou nezbytné pro aktivitu nukleáz (např. DNáz degradujících DNA) a je tedy nezbytné je tímto způsobem inaktivovat, a také tyto ionty při vysoké teplotě (95-100°C) mohou vést k poškození DNA. Principem izolace je homogenizace vzorku, destrukce buněčných komponent alkalickým prostředím a vysokou teplotou, a separace roztoku obsahujícího DNA od zbytků buněčných komponent a pryskyřice chelexu.

Postup:

- Připravíme si 5% roztok chelexu o dostatečném objemu. Při přípravě chelexu máme na paměti, že  partikule chelexu snadno klesají ke dnu, takže před použitím musíme roztok s chelexem řádně promíchat.
- Přidáme testovaný vzorek, provedeme homogenizaci například plastovým tloučkem a přidáme Proteinásu K tak, aby její výsledná koncentrace byla 0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Promícháme a inkubujeme 10 min při 56 °C.
- Poté promícháme vortexem 10-15 sekund a inkubujeme 10 min při 95-100 °C. Vzorky promícháme a centrifugujeme při maximální rychlosti 5 min.
- Horní fázi přendáme do čisté zkumavky a dále vyhodnocujeme pomocí PCR.

 Vždy dbáme na to, aby reakce PCR neobsahovala příměsi chelexu, protože chelex PCR reakci inhibuje.