



Набор для выделения геномной ДНК Lumiprobe

Contents

Русский: Набор для выделения геномной ДНК Lumiprobe 3-6

Lumiprobe Corporation
(US and Worldwide)
9:00AM - 9:00PM EST

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA

Phone: +1 888 973 63 53

Lumiprobe GmbH
(Germany and Europe)
9:00AM - 5:00PM CE(S)T

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany

Phone: +49 511 16596811

Biotech Industry Ltd
(Russia and CIS)
9:00 - 18:00 GMT+3 (Moscow)

Leninskie Gory, 1, bld. 75
119992 Moscow
Russian Federation

Phone: +7 495 973 6353



ISO 9001:2015

The certificate No.: 12 100
52989 TMS
Issued by TÜV SÜD
Management Service GmbH

www.lumiprobe.com

Набор для выделения геномной ДНК Lumiprobe

Набор предназначен для быстрого (не более 1 часа) выделения геномной ДНК из различных объектов (грам-бактерии, ткани растений и животных, клеток крови, мицелия грибов) на спин-колонках. Максимальный выход ДНК — 20 мкг, OD 260/280 1,7-2,2.

Состав набора (рассчитан на выделение 40 образцов ДНК):

Компонент набора	Количество
Колонки с сорбентом	40 шт
Пробирки для сбора проскока	40 шт
Лизирующий буфер I	1x40 мл
Лизирующий буфер II	1x20 мл
Промывочный буфер А (содержит GuHCl , гуанидиния хлорид)	1x30 мл
Концентрат промывочного буфера В (разбавляется этанолом [*])	2x10 мл
Элюирующий буфер	1x10 мл
РНКаза А (10 мг/мл)	2x0,15 мл
Корунд	1x15 г

Хранить при комнатной температуре, срок хранения 1 год.

^{*}Этанол не входит в набор

Перед началом работы

Добавьте 40 мл 96% этанола к 10 мл концентрата промывочного буфера В, поставьте отметку о добавлении этанола на крышке.

При наличии осадка в лизирующих буферах и промывочном буфере А (с GuHCl) нагрейте их не более чем до 50 °С до полного растворения осадка.

Весь протокол выполняется при комнатной температуре, все центрифугирования при 10000-13000 об/мин.

Ориентировочные выходы геномной ДНК с 50-100 мг ткани или культуры клеток:

- 10^9 клеток грам-бактерий (1 мл культуры OD600 1) — 5-10 мкг
- Лист растений — 3-5 мкг

- Хвоя — 2-5 мкг
- Мицелий грибов — 2-5 мкг
- Хвост мыши — 3-5 мкг
- Почка мыши — 5-10 мкг
- Сердце мыши — 2-5 мкг
- Печень мыши — 2-5 мкг

Образцы для выделения ДНК

На 1 мл лизирующего буфера берите не больше 200 мг ткани или $4 \cdot 10^9$ клеток бактерий или 10^7 клеток млекопитающих. При выделении из некоторых образцов может понадобиться больше лизирующего буфера для смачивания.

Гомогенизированные образцы можно хранить в лизирующем буфере несколько недель при комнатной температуре.

В состав набора входит корунд 50 мкм. При гомогенизации прямо в лизирующем буфере в ступке с пестиком или в 1,5 мл пробирке с использованием пестика-гомогенизатора его добавление способствует полной деструкции образца и облегчает процесс гомогенизации. Гомогенизация образца в ступке с пестиком является предпочтительным методом, так как при этом обеспечивается наиболее полное разрушение тканей. Удовлетворительного результата позволяет добиться и пестик-гомогенизатор, однако выход ДНК при прочих равных условиях меньше.

Для культур клеток этап гомогенизации не нужен. Просто соберите клетки центрифугированием, ресуспендируйте их в 50-100 мкл воды и переходите к лизису.

Протокол

1а. (если используется пестик-гомогенизатор). 20-100 мг ткани поместите в пластиковую пробирку на 1,5 мл, добавьте 200 мкл лизирующего буфера **I**, 70-100 мг корунда и гомогенизируйте образец с помощью пестика-гомогенизатора. После гомогенизации добавьте 450 мкл лизирующего буфера **I**. Добавьте 5 мкл р-р РНКазы, перемешайте.

1б. (если используется фарфоровая ступка). В ступку поместите 100 мкл стерильной воды, собранные клетки или 20-100 мг ткани, 200 мкл лизирующего буфера **I**, немного корунда и гомогенизируйте смесь в ступке. После гомогенизации добавьте еще 450 мкл лизирующего буфера **I**, перемешайте, перенесите смесь в 1,5 мл пробирку. Добавьте 5 мкл р-ра РНКазы,

перемешайте.

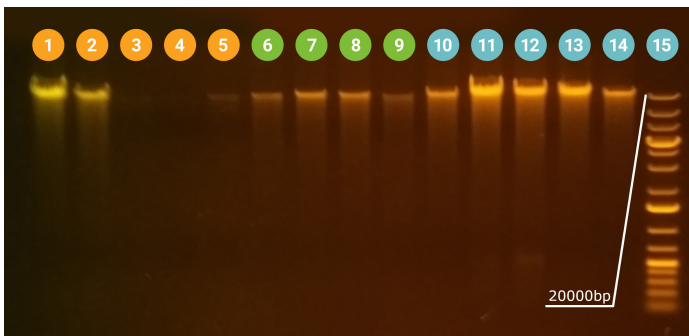
2. Инкубируйте при 50°C 10-20 мин. Добавьте к образцам 350 мкл лизирующего буфера **II**, перемешайте.
3. Лизат центрифугируйте на 10000-13000 об/мин 10 мин, 800 мкл супернатанта перенесите в новую пробирку на 1,5 мл.
4. К 0,8 мл лизата добавьте 200 мкл изопропанола (не входит в набор), перемешайте.
5. Поместите колонку в пробирку для сбора проскока, нанесите на колонку 800 мкл лизата, центрифугируйте 45-60 сек, 10000-13000 об/мин. Проскок слейте, дальнейшая работа ведется с колонкой.
6. Нанесите на колонку 500 мкл промывочного буфера **A** (с GuHCl), центрифугируйте 45-60 сек, 10000-13000 об/мин. Проскок слейте.
7. Нанесите на колонку 500 мкл промывочного буфера **B** (с этанолом), центрифугируйте 45-60 сек, 10000-13000 об/мин. Повторите этап 6 еще раз.
8. Проскок слейте. Центрифугируйте 45-60 сек, 10000-13000 об/мин.
9. Поместите колонку в новую пробирку на 1,5 мл, нанесите на колонку 100 мкл элюирующего буфера. Инкубируйте 1 мин при комнатной температуре и центрифугируйте 60 сек, 10000-13000 об/мин. Выделенная ДНК находится в вышедшем из колонки элюате.

Примечание

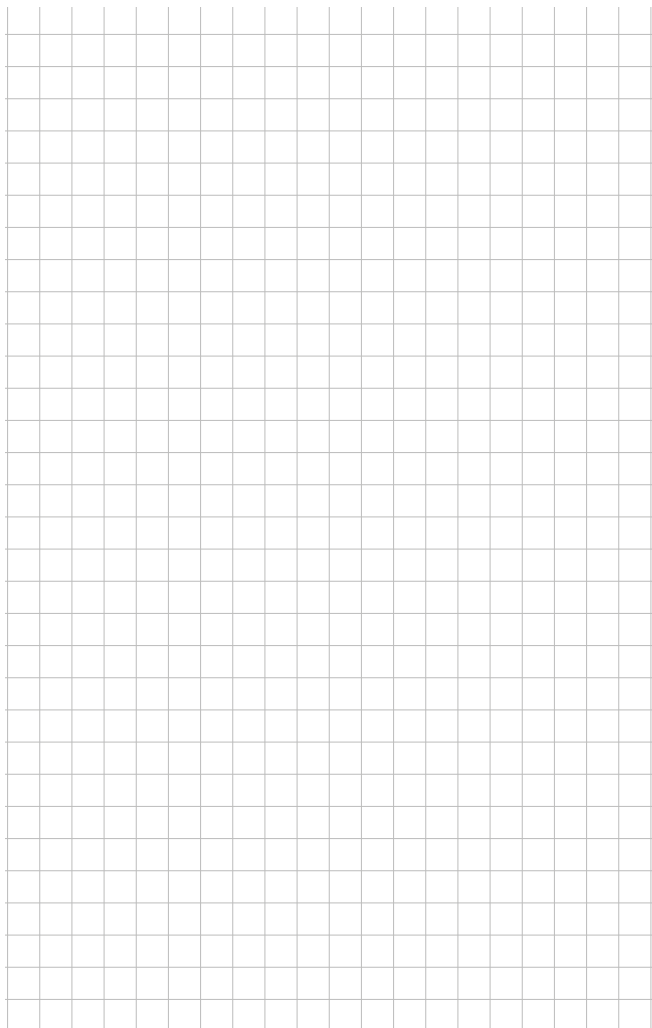
Если необходимо развести раствор при измерении концентрации ДНК, то следует это делать только в буфере TE pH 8,5 или элюирующем буфере, иначе можно получить неточные значения A260/280, что приведет к неверному определению содержания ДНК в растворе.

Хранить ДНК кратковременно при 2-4°C, долговременное хранение при -20°C.

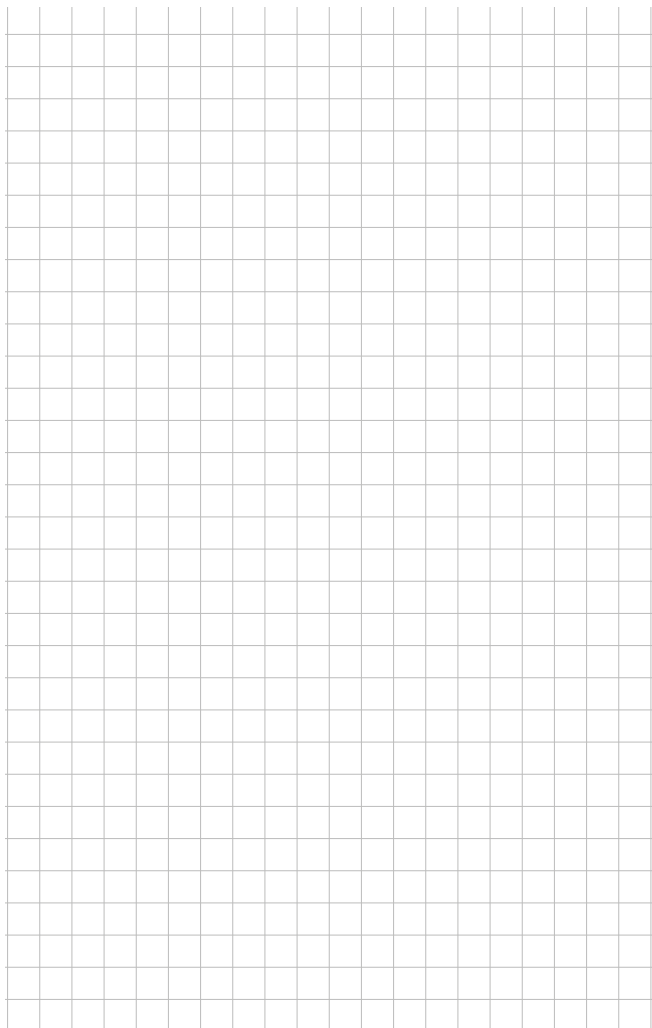
Пример электрофореграммы ДНК, выделенной из различных источников



1 — *E. coli*; **2** — *Agrobacterium tumefaciens*; **3** — *Bacillus subtilis*; **4** — *Pichia pastoris*; **5** — *Fusarium graminearum*; **6** — Лист клевера (*Trifolium*); **7** — Лист тимофеевки (*Phleum*); **8** — Лист калины; **9** — Хвоя ели (*Picea*); **10** — Сердце мыши; **11** — Почка мыши; **12** — Печень мыши; **13** — Легкое мыши; **14** — Хвост мыши. Маркер длин ДНК 1 Kb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), верхняя полоса 20 000 пн.







Lumiprobe Corporation

(US and Worldwide)

9:00AM - 9:00PM EST

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA

Phone: +1 888 973 63 53

Lumiprobe GmbH

(Germany and Europe)

9:00AM - 5:00PM CE(S)T

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover

Germany

Phone: +49 511 16596811

Biotech Industry Ltd

(Russia and CIS)

9:00 - 18:00 GMT+3 (Moscow)

Leninskie Gory, 1, bld. 75

119992 Moscow

Russian Federation

Phone: +7 495 973 6353



ISO 9001:2015

The certificate No.: 12 100 52989 TMS
Issued by TÜV SÜD Management Service GmbH

www.lumiprobe.com

