

Үлгіні зерттеуге дайындау

**Геномдық ДНК
молекуласын бөліп алу**

Геномдық ДНҚ молекуласын ядросы бар кез келген клеткадан бөледі



- тырнақ (аяқ, қол),
- сағыз қалдығы,
- құлақтағы сера,
- темекі тұқылы,
- шаш түбімен,
- бет орамал немесе мұрын сүрткен сулық,
- тіс щеткасы,
- тарақ,
- ұстара және т.б.

Геномдық ДНҚ молекуласын ядросы бар кез келген клеткадан бөледі

ДНҚ молекуласын бөлуде кеңінен қолданылатын материалдар:

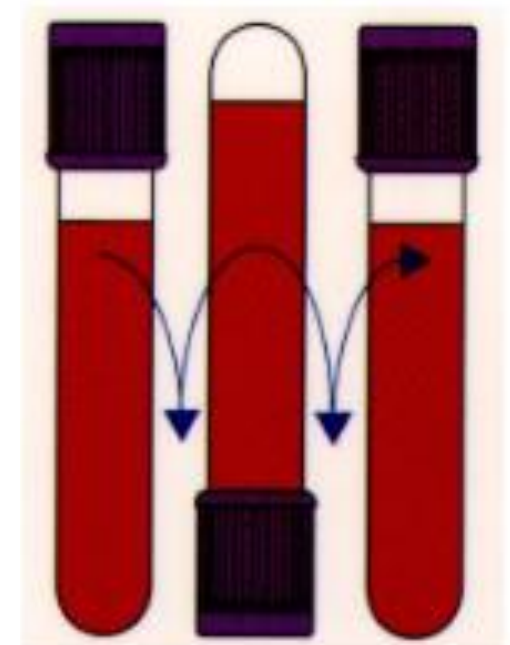
Ғылыми-зерттеу жұмыстарында арнайы антикогулянтты бар пробиркаларға жиналған вена тамырынан алынған қан клеткалары және ауыз ұртынан жиналған клеткаларды қолданады.



Биологиялық материалдарды жинау және оны лабораторияға тасымалдауға қойылатын негізгі талаптар:

Температуралық режим сақталуы керек. Мысалы, қан салқында тасымалдануы керек, алайда ол мұздатылған болмауы керек.

Шамамен 48 сағаттың ішінде биоматериалдан (ұлпа немесе қан) ДНҚ молекуласы бөлінбейтін болса, онда бұл материалдар -20 немесе -80 температурада мұздатқышта сақталуға қойылады.



Қан материалдарын арнайы антикогулянтты бар пробиркаларға жинағанда қан ұйып қалмауы үшін бірнеше мәрте араластыру керек. **Мұнда қатты араластыруға болмайды.**

ДНҚ молекуласын бөлу кезеңдері

- Клетканы лизиске ұшырату
- Клетка ядросын лизиске ұшырату
- Зерттеу материалын ингибиторлардан (нуклеазалар) тазарту
- Клетканың басқа да органеллаларынан нуклеин қышқылын ажырату
- ДНҚ молекуласын тазалау және концентрациясын ұлғайту

ДНҚ молекуласын бөліп алу әдістері

ДНҚ молекуласын бөліп алу алға қойылған міндетке, талдау уақытына және ДНҚ-ның тазалық дәрежесіне байланысты.

Органикалық ерітінділер арқылы бөліп алу

Силики (силикагель) арқылы бөліп алу

Гель-филтрация арқылы бөліп алу

Магнитті бөлшектермен байланыстыру арқылы бөліп алу

Микроцентрифугалық колонкаларда бөліп алу

Қағаз фильтрлерден экстракциялау арқылы бөліп алу

ДНҚ молекуласын фенол-хлороформдық әдіспен бөліп алу

Қарапайым лизис:

Механикалық бұзу (арнайы аспаптар арқылы механикалық майдалау, ультрадыбыспен өңдеу т.б.)

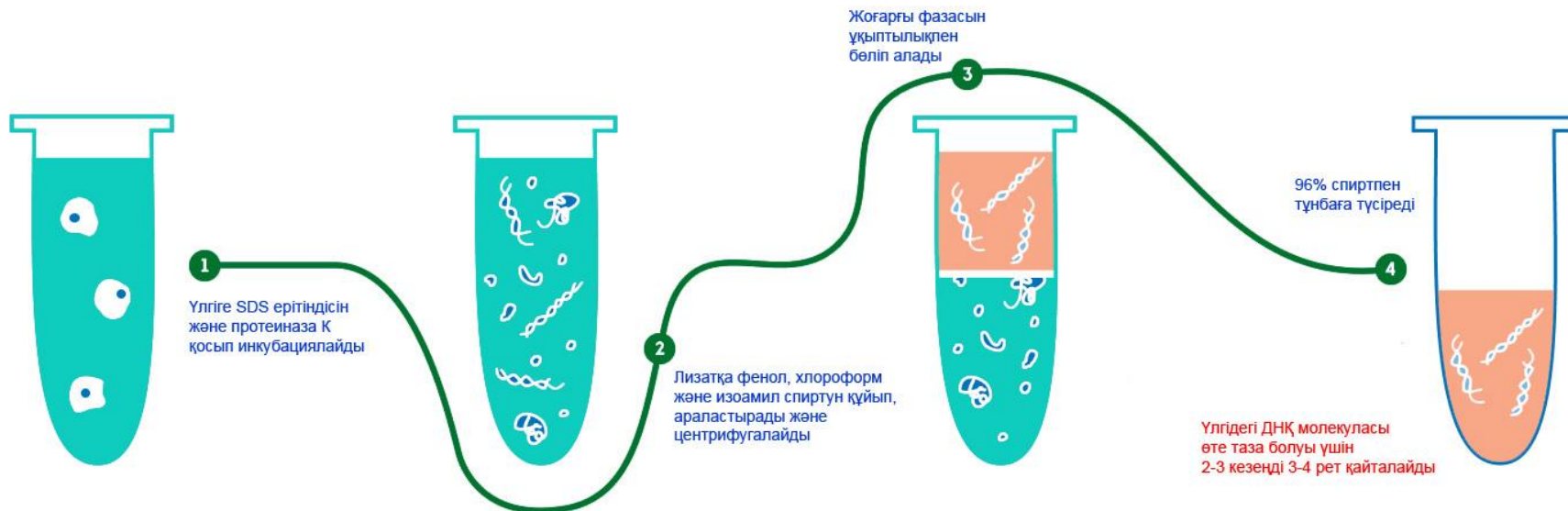
Химиялық өңдеу (мысалы, детергенттер, хаотропты агенттер арқылы өңдеу)

(Хаотропты агенттер дегеніміз – ДНҚ, РНҚ және белок молекулаларының үшінші реттік құрылымын бұзатын заттар)

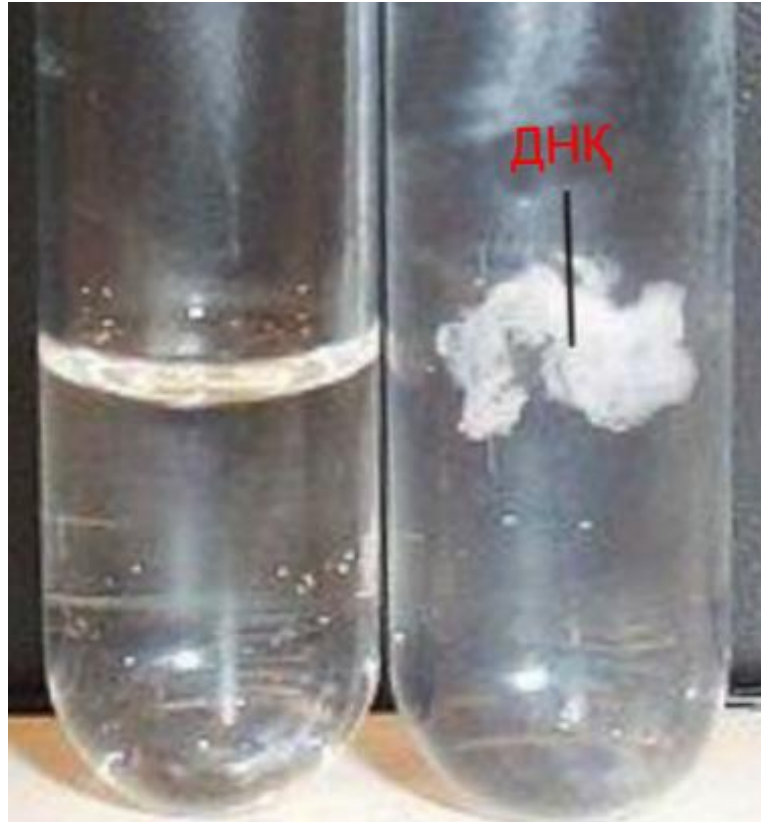
Белоктарды ферменттердің көмегімен ыдырату
(мысалы, протеинкиназа К т.б.)

ДНҚ молекуласын фенол-хлороформдық әдіспен бөліп алу

Клеткалардың лизисінен және нуклеазалардың активсізденуінен кейін пайда болатын клеткалық массадан сүзу арқылы немесе центрифугалау арқылы арылуға болады.



ДНҚ молекуласын 96 % спиртпен тұнбаға түсіру



Спирт алды

Спирт құйғаннан
кейін

Әдістің артықшылығы:

- ДНҚ молекуласының сапасы жақсы және жоғары концентрацияда болады.
- Көптеген зерттеулерде қолдануға болады
- Бөлініп алынған ДНҚ молекуласы тұрақты және ұзақ уақытқа сақтауға болады

Әдістің кемшілігі:

- Фенол-хлороформ улы зат болып есептеледі
- Салыстырмалы түрде көп уақытты алады
- Автоматтандыруға болмайды

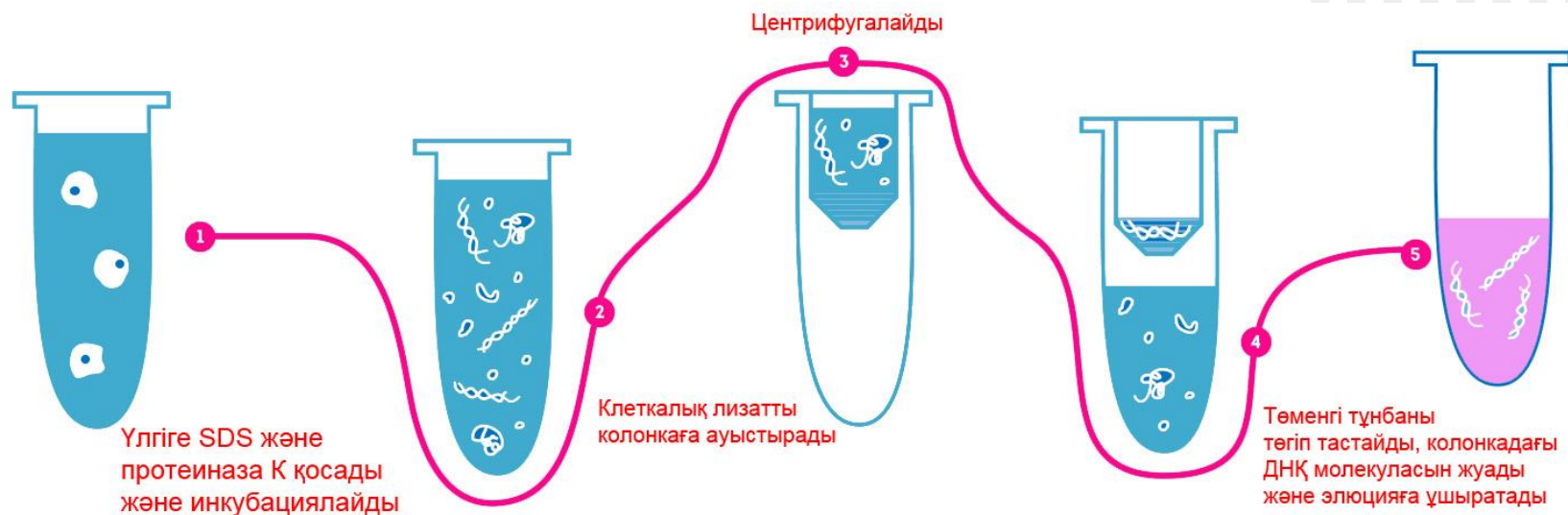
Спин-колонка (силикагель) арқылы бөліп алу

Клеткалық экстрактқа немесе қан клеткаларына гуанидинтиоцианат реагентін қосады.

Мұнда ДНҚ молекуласынан басқа клетка компоненттерінің барлығы денатурацияға ұшырайды.

Ары қарай ДНҚ молекуласы силика бөлшектерімен байланысады. Үлгіні силикасы бар пробирка-колонка арқылы өткізеді. ДНҚ осы колонкада қалады.

Арнайы ерітінді арқылы ДНҚ молекуласын тұнбаға түсіреді (элюция).



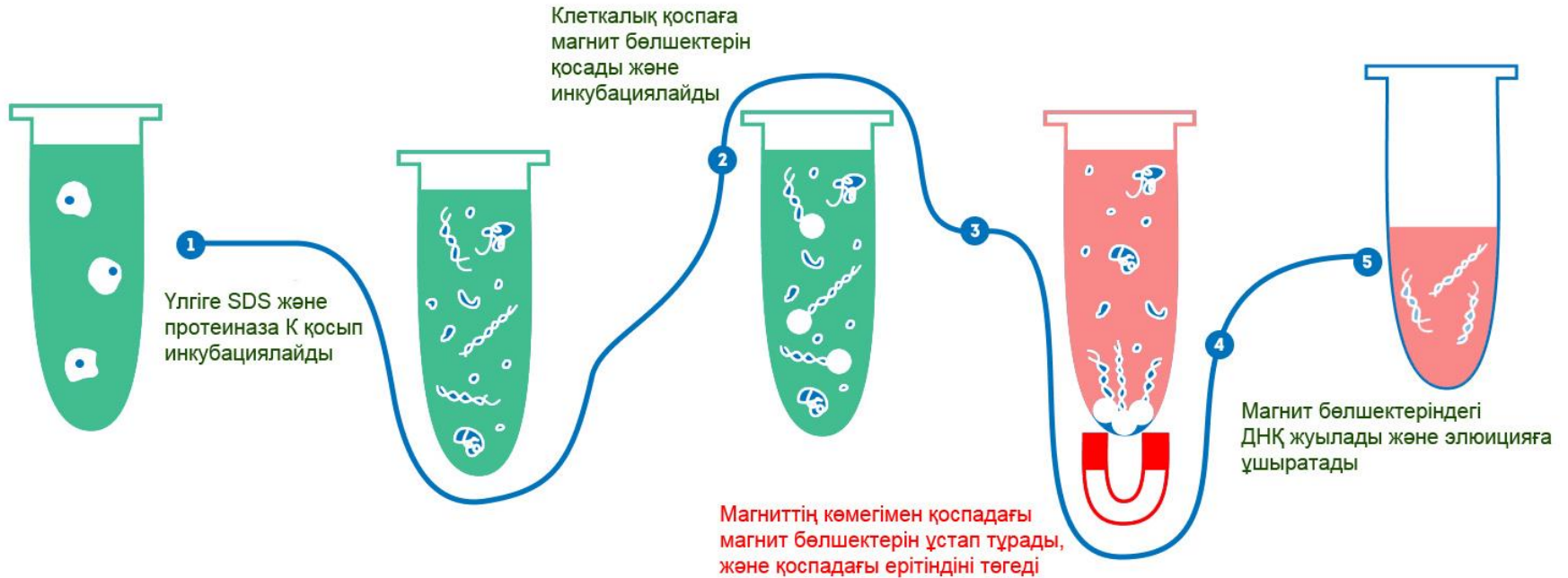
Әдістің артықшылығы:

- Бөлінген ДНҚ молекуласы таза болады
- ДНҚ молекуласының сапасы жоғары болады
- Бөліп алу протоколы қарапайым

Әдістің кемшілігі:

- Саны көп үлгілерден бөліп алу кезінде контаминацияға әкелуі мүмкін
- ДНҚ молекуласының қысқа бөліктері спин-колонкадан бөлінуі қиын
- Бағасының қымбат болуы

Магнитті бөлшектермен байланыстыру арқылы бөліп алу

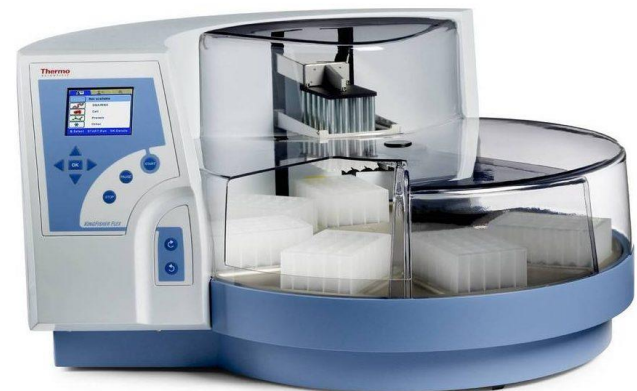


Әдістің артықшылығы:

- Жүзеге асыру уақыты жылдам
 - Орындалуы қарапайым
 - Ингибиторлардың болуын төмендетеді
 - Автоматты жүзеге асыруға болады
 - Қосымша құралдарды қажет етпейді
- Қазіргі кезде көптеген автоматты ДНҚ бөлу жүйелері осы магнитті бөлшектер технологиясына негізделген

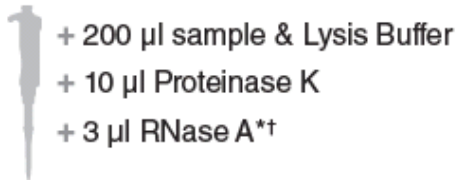
Әдістің кемшілігі:

- Бағасының қымбат болуы



New England Biolabs **КОМПАНИЯСЫНЫҢ** **ГЕНОМДЫҚ ДНҚ МОЛЕКУЛАСЫН БӨЛЕТІН** **ЖАҢА ЖИЫНТЫҒЫ (Monarch)**

1 Lyse





Blood/cells: 5 min. (56°C)
Tissue: 60 min. (56°C)

* Add separately for tissue samples
† Include debris removal spin for fibrous tissues

2 Bind



Discard


 3 min. (1,000 xg)
 1 min. (max. speed)

No ethanol required

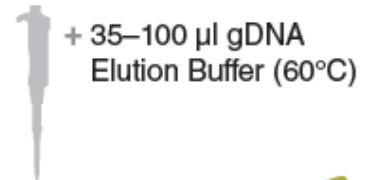
3 Wash (2X)




Reuse

 1 min. (max. speed)

4 Elute

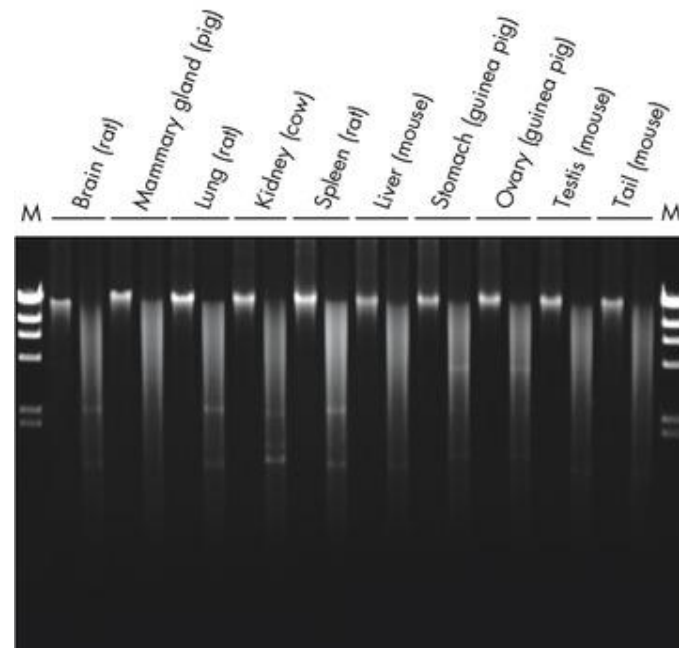
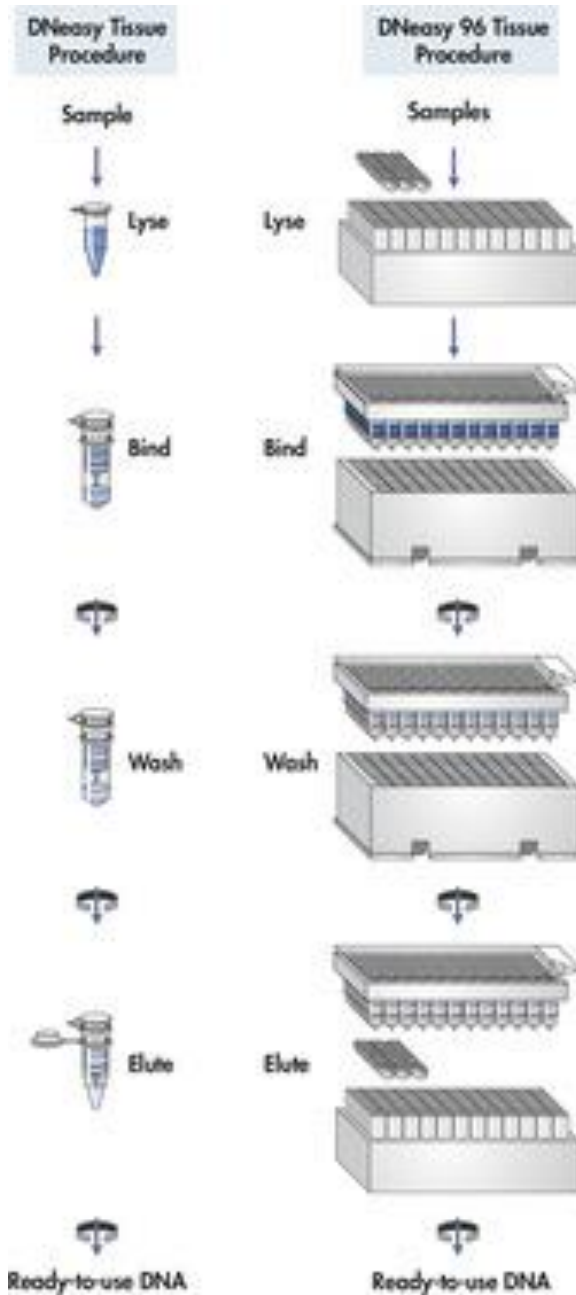


 1 min. (max. speed)

Only 1 spin needed



**QIAGEN компаниясының
геномдық ДНҚ молекуласын
бөлетін жаңа жиынтығы
(DNeasy Blood & Tissue Kits)**





SIGMA-ALDRICH

ThermoFisher
SCIENTIFIC

