

Протокол: Окрашивание ДНК в гелях красителями dsGreen

dsGreen это флуоресцентный краситель, который специфически связывается с двухцепочечной ДНК. Существует три варианта протокола окрашивания: окрашивание путем инкубирования геля в растворе красителя, добавление красителя в гель и добавление красителя к образцу.

Окрашивание путем инкубирования геля в растворе красителя

Это классический метод окрашивания ДНК в агарозных и полиакриламидных гелях (ПААГ)

1. Проведите электрофорез образца(ов) в агарозном или полиакриламидном геле.
2. В химическом стакане смешайте 10 мкл раствора [10 000 × dsGreen в ДМСО](#) и 100 мл 1 × TE, TBE или TAE буфера (для мини-гелей) или 50 мкл раствора [10 000 × dsGreen в ДМСО](#) и 500 мл 1 × TE, TBE или TAE буфера (для гелей среднего размера). Тщательно перемешайте раствор шпателем, стеклянной палочкой или магнитной мешалкой.
3. Перелейте разбавленный раствор dsGreen в подходящий лоток или сосуд и поместите туда гель.
4. Инкубируйте гель в растворе красителя в течение 5-10 мин при перемешивании.
5. Просмотрите или сфотографируйте гель, используя подходящий источник света и зеленый/желтый фильтр. Для визуализации гелей, окрашенных dsGreen, можно использовать трансиллюминаторы с синим светом или с УФ ртутной лампой низкого давления с длиной волны 254 нм. Также можно использовать ртутную лампу высокого давления с длиной волны 365 нм, но этот источник света дает несколько менее эффективное возбуждение.

Добавление красителя в гель

Этот метод подходит только для агарозных гелей, но не для ПААГ.

Примечание: Этот метод окрашивания может иногда приводить к деформации полос ДНК или их диффузии в геле. В этом случае используйте метод инкубирования геля в растворе красителя.

1. Нагрейте до кипения агарозу в буфере TAE или TBE и дождитесь полного растворения. Для нагрева можно использовать микроволновую печь или другое нагревательное устройство.
2. Пока раствор не превратился в гель, добавьте 1 мкл реагента [10 000 × dsGreen в ДМСО](#) на каждые 10 мл раствора геля. Тщательно перемешайте.
3. Залейте получившуюся смесь в форму для геля и дождитесь затвердевания.
4. Для достижения наилучших результатов добавьте 1 мкл раствора [10 000 × dsGreen в ДМСО](#) на каждые 10 мл буфера вблизи анода («+», красный провод).
5. Проведите электрофорез образцов. Возможно наблюдение за мигрирующими полосами ДНК в режиме реального времени под ртутной лампой низкого давления с длиной волны 254 нм.
6. Просмотрите или сфотографируйте гель, используя подходящий источник света и зеленый/желтый фильтр. Для визуализации гелей, окрашенных dsGreen, можно использовать трансиллюминаторы с синим светом или с УФ

ртутной лампой низкого давления с длиной волны 254 нм. Также можно использовать ртутную лампу высокого давления с длиной волны 365 нм, но этот источник света дает несколько менее эффективное возбуждение.

Добавление красителя к образцу

Это наименее чувствительный, но самый экономичный метод.

1. Смешайте 25 мкл ДМСО и 1 мкл раствора [10 000 × dsGreen в ДМСО](#).
2. Добавьте 1 мкл полученного раствора к каждому образцу, который должен быть разделен на агарозном или полиакриламидном геле, перемешайте.
3. Проведите электрофорез образцов. Возможно наблюдение за мигрирующими полосами ДНК в режиме реального времени под ртутной лампой низкого давления с длиной волны 254 нм.
4. Просмотрите или сфотографируйте гель, используя подходящий источник света и зеленый/желтый фильтр. Для визуализации гелей, окрашенных dsGreen, можно использовать трансиллюминаторы с синим светом или с УФ ртутной лампой низкого давления с длиной волны 254 нм. Также может использоваться ртутная лампа высокого давления с длиной волны 365 нм, но этот источник света дает несколько менее эффективное возбуждение.

Lumiprobe Corporation

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd

Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com