

**Набор реагентов для выделения ДНК «Сорб-ГМО-Б»**

из растительного сырья, продуктов питания и кормов  
на 50 выделений

**Состав набора**

<i>Название</i>	<i>Описание</i>	<i>Количество</i>
Инструкция		1
Реагент №2	Лизирующий буфер, 40 мл	1
Реагент №3	Протеиназа К, 0,9 мл	1
Реагент №4	Хлороформ, 30 мл	1
Реагент №5А	Осаждающий раствор, 30 мл	1
Реагент №5Б	Сорбент, 1,5 мл	1
Реагент №6	Промывочный раствор А, 25 мл	1
Реагент №7	Промывочный раствор Б, 25 мл	1
Реагент №8	Промывочный раствор В, 25 мл	1
Реагент №9	ТЕ-буфер, 6 мл	1

**Условия доставки**

Набор доставляется без охлаждения и далее хранится в соответствии с условиями хранения

**Условия хранения**

Реагенты № 2, 4-9: + 4-8 °С

Реагент № 3: (- 18) - (-20)°С

**Срок годности**

12 месяцев при соблюдении условий хранения

**Дополнительное оборудование**

1. Центрифуга для микропробирок 13 000 об/мин, например, Eppendorf 5424
2. Микропробирки объемом 1,5 или 2,0 мл
3. Микропипетки переменного объема на 1000, 200 и 20 мкл и наконечники к ним
5. Штатив для пробирок 2,0 мл
6. Термостат твердотельный, например, «Циклотемп-303»
7. Микроцентрифуга-встряхиватель, например, «Циклотемп-901»
8. Шпатели
9. Весы, дискретность не менее 0,01 г

**ЗАО «Синтол»**

127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д.42  
Тел/факс: (495) 984-69-93 Тел.: (499) 977-74-55  
e-mail: info@syntol.ru

[www.syntol.ru](http://www.syntol.ru)

### Подготовка реагентов

1. Реагенты №2 и №5А прогреть на термостате при 60°C или выдержать при комнатной температуре 15-30 минут и **обязательно перемешать** плавным переворачиванием до полного растворения осадка.

### Навеска

Сухие однородные образцы	50-100 мг
Сухие неоднородные образцы, образцы сложного состава (чем более неоднородный образец, тем большая навеска необходима)	50-200 мг
Влажные образцы	50-200 мг
Жидкие образцы	100-300 мкл

### Протокол выделения стандартный

1. Измельченные навески образцов перенести в одноразовые микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл или 2,0 мл. Дополнительно в каждой серий выделений приготовить пустую пробирку для **ОКО-В**.
2. Внести в каждую пробирку (включая ОКО-В) по **800 мкл Реагента №2 и 15 мкл Реагента №3**. Тщательно перемешать на вортексе или с помощью стеклянной палочки.
3. Инкубировать смесь 50-60 минут при температуре +60°C, периодически перемешивая на вортексе (каждые 15-20 минут). Остудить пробирки (1-2 минуты) и центрифугировать смесь 5 минут при 12-14 тыс. об/мин.
4. Верхнюю водную фазу из каждой пробирки (не более 600 мкл) перенести отдельными наконечниками с аэрозольными барьерами в новые пробирки объемом 1,5 мл.
5. Внести в каждую пробирку по **500 мкл Реагента №4 (бесцветный нижний слой)**, интенсивно перемешать каждую пробирку на вортексе 10 секунд. Центрифугировать смесь при 12-14 тыс. об/мин в течение 10 минут.
6. Во время лизиса и центрифугирования приготовить **Реагент №5**. Для этого в новые пробирки объемом 1,5 мл, взятые в количестве, равном количеству Ваших образцов, внести по **600 мкл Реагента №5А** и по **25**

**мкл Реагента №5Б** (Реагент №5Б непосредственно перед внесением интенсивно перемешать на вортексе до полной гомогенизации).

7. Верхнюю водную фазу из каждой пробирки с образцами в объеме **300 мкл (при недостатке можно отбирать меньше – до 100 мкл)** очень аккуратно, не захватывая нижний слой хлороформа, межфазный слой и неосевшие частицы, перенести отдельными наконечниками с аэрозольными барьерами в пробирки с **Реагентом №5**.
8. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе до полного ресуспензирования сорбента. Инкубировать при комнатной температуре 10 минут, периодически встряхивая пробирки. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 1 минуту. Удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
9. Добавить к осадку в каждой пробирке по **500 мкл Реактива №6**. Интенсивно перемешать на вортексе до максимального ресуспензирования сорбента. Инкубировать при комнатной температуре 1-2 минуты, периодически встряхивая пробирки. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 30 секунд. Удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
10. Добавить к осадку в каждой пробирке по **500 мкл Реактива №7**. Интенсивно перемешать на вортексе до максимального ресуспензирования сорбента. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 30 секунд. Удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
11. Добавить к осадку в каждой пробирке по **500 мкл Реактива №8**. Интенсивно перемешать на вортексе до максимального ресуспензирования сорбента. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 30 секунд. Удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
12. Поместить пробирки с открытыми крышками в термостат на 60°C на 5 минут для испарения жидкости.
13. К сухому осадку в пробирках добавить по **100 мкл Реактива №9**, перемешать на вортексе. Инкубировать 10 минут при температуре +60°C, перемешивая каждые 2 минуты. Центрифугировать пробирки с суспензией при 12-14 тыс. об/мин 2 минуты. Чистую надосадочную жидкость (около 70 мкл) рекомендуется отобрать, не захватывая сорбент, в новые пробирки объемом 0,5 или 1,5 мл.