

Набор реагентов для выделения ДНК «Сорб-ГМО-А»

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	Буфер для сорбента, 10 мл	1
Реагент № 5	Сорбент, 1,1 мл	2
Реагент № 6	Промывочный раствор А, 15 мл	1
Реагент № 7	Промывочный раствор Б, 50 мл	1
Реагент № 8	ТЕ-буфер, 6 мл	1

Условия доставки

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

Условия хранения

Реагенты № 2, 4-8: + 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

Подготовка реагентов

Реагенты №2, №4 и №6 (если есть осадок) 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	50-60 мг
Сухие неоднородные образцы, образцы сложного состава (чем более неоднородный образец, тем большая навеска необходима)	50-100 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 серии 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 30 минут при температуре +60°C, периодически перемешивая на вортексе (каждые 5-10 минут). Остудить пробирки (1-2 минуты) и центрифугировать смесь 5 минут при 12-14 тыс. об/мин.
4. Во время лизиса и центрифугирования приготовить **Осаждающий Реагент**. Для этого в новые пробирки на 1,5 мл, взятые в количестве, равном количеству Ваших образцов, внести по **200 мкл Реагента №4** и по **40 мкл Реагента №5** (Реагент №5 непосредственно перед внесением интенсивно перемешать на вортексе до полной гомогенизации).
5. После лизиса и центрифугирования 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 и неосевшие частицы, перенести отдельными наконечниками с аэрозольными барьерами в пробирки с **Осаждающим Реагентом**.

6. 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.
7. Добавить к осадку в каждой пробирке по **300 мкл Реагента №6**. Интенсивно перемешать на вортексе до полного ресуспензирования сорбента. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 30 секунд. Удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
8. Добавить к осадку в каждой пробирке по **500 мкл Реагента №7**. Интенсивно перемешать на вортексе до полного ресуспензирования сорбента. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 30 секунд. Удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
9. Добавить к осадку в каждой пробирке еще по **500 мкл Реагента №7**. Интенсивно перемешать на вортексе до полного ресуспензирования сорбента. Центрифугировать пробирки с суспензией при 7 тыс. об/мин 30 секунд. Максимально удалить супернатант, используя отдельный наконечник для каждой пробы.
10. Поместить пробирки с открытыми крышками в термостат на 60°C на 10-15 минут до полного испарения жидкости (сорбент должен стать белым).
11. К сухому осадку в пробирках добавить по **100 мкл Реагента №8**, перемешать на вортексе. Инкубировать 5 минут при температуре +60°C, перемешивая каждые 2 минуты. Центрифугировать суспензию 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.