



**Набор реагентов для выделения метагеномной ДНК из кала
«Meta Fec»**

#metafecTest-10 #metafec-50

Набор реагентов предназначен для выделения метагеномной ДНК из образцов кала методом сорбции на магнитных частицах. В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:

1. Лизирующий буфер – на основе хаотропных агентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Связывающий буфер 1 – для повышения сорбции НК на магнитных частицах;
3. Связывающий буфер 2 – для повышения сорбции НК на магнитных частицах;
4. Промывочный буфер 1 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
5. Промывочный буфер 2 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
6. Промывочный буфер 3 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
7. Промывочный буфер 4 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
8. Элюирующий буфер – для элюции и хранения НК, рН=8,9;
9. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса;
10. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «**Meta Fec**» могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. В случае наличия осадка при минимальных температурах хранения, растворы следует нагреть до комнатной температуры.

Магнитные частицы могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. Перед применением суспензию частиц необходимо тщательно взбалтывать до однородного состояния.

Фермент **Протеиназа К** хранится при -20°C, срок хранения составляет 12 месяцев. Допускается кратковременное повышение температуры хранения (транспортировки) от +4°C до +25°C не более 5 суток.

Необходимые материалы и оборудование: микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл; магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл; штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл; автоматические дозаторы переменного объема на 20-200 мкл, 100-1000 мкл и соответствующие одноразовые наконечники; вортекс; твердотельный термостат с возможностью поддержания температурного режима в диапазоне 25-80°C для пробирок объемом 1,5-2 мл; скоростная микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5-2 мл до 13 тыс. об/мин; штатив-охладитель или ледогенератор.

Meta Fec

Проведение процедуры выделения метагеномной ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить 100 мг исследуемых образцов кала.
2. Добавить к образцам 400 мкл лизирующего буфера и 20 мкл Протеиназы К.
3. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе.
4. Инкубировать пробирки в термостате при температуре 56°C в течение 1-2 часов, периодически перемешивая.
5. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
6. Поместить пробирки на лед или в холодный штатив и инкубировать в течение 3 минут. В случае отсутствия охлаждающих элементов инкубировать при комнатной температуре в течение 10 мин до полного остывания смеси.

Сорбция НК

1. Добавить к смеси 350 мкл связывающего буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут.
4. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при макс. об/мин.
5. Аккуратно, не задевая осадок, перенести супернатант в новые пробирки.
6. Повторить пункты 4-5.
7. Добавить в пробирки 240 мкл связывающего буфера 2 и 50 мкл магнитных частиц, интенсивно перемешать пробирки на вортексе.
8. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут, периодически перемешивая.
9. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
10. Инкубировать на магнитном штативе в течение 5 минут.
11. Аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.

Промывка НК

1. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 2 минут. Аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.
4. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 2.
5. Повторить пункты 2-3.
6. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 3.
7. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
8. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 2 минут. Аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.
9. Повторить пункты 6-8.
10. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 4.
11. Повторить пункты 7-8.
12. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате при температуре 56-60°C в течение 5-10 минут до полного испарения промывочного раствора.

Элюция НК

1. Добавить в пробирки 50-100 мкл элюирующего буфера.
2. Интенсивно перемешать на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать в термостате при температуре 56-60°C в течение 10 минут, периодически перемешивая.
4. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
5. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 3-5 минут.
6. Аккуратно, не задевая частицы, перенести элюат в новые пробирки.

Опционально: рекомендуется провести дополнительное центрифугирование элюата на максимальной скорости для удаления остаточного количества магнитных частиц.

Полученные растворы нуклеиновых кислот могут храниться до 7 дней при температуре от +2°C до +4°C и до двух лет при температуре -20°C. По соотношению показателей поглощения на A260/A280 чистота полученного раствора ДНК соответствует $\geq 1,7$.