



**Набор реагентов для выделения метагеномной ДНК из проб  
молока большого объема  
«Meta Milk Maxi»**

## **#metamilk\_maxiTest-10 #metamilk\_maxi-25 #metamilk\_maxi-50**

**Набор реагентов предназначен для выделения метагеномной ДНК из проб молока большого объема 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 – для повышения сорбции НК на магнитных частицах;
3. Ресуспендирующий буфер – для разрушения конгломерата частиц;
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. Элюирующий буфер – для элюции и хранения НК, рН=8,9;
7. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса;
8. Магнитные частицы – для сорбции НК.

**Буферы** набора «Meta Milk Maxi» 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: пробирки типа фалькон объемом 15 мл; штатив для пробирок типа фалькон; водяная баня с возможностью поддержания температурного режима в диапазоне 55-65°C; центрифуга для пробирок типа фалькон объемом 15 мл; микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл; магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл; автоматические дозаторы переменного объема на 2-20 мкл, 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.

## **Meta Milk Maxi**

### **Проведение процедуры выделения ДНК**

#### **Лизис**

1. В пробирки объемом 15 мл поместить 3 мл исследуемых проб молока.
2. Добавить к образцам 1 мл лизирующего буфера и 10 мкл Протеиназы К.
3. Перемешать пробирки с помощью переворачивания.
4. Инкубировать пробирки на водяной бане при температуре 56-60°C в течение 40 минут, периодически перемешивая.

#### **Сорбция НК**

1. Добавить в пробирки 8 мл связывающего буфера и 50 мкл магнитных частиц, перемешать.
2. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение 20-30 минут, перемешивая каждые 5 минут, либо установить на вращающийся ротор с минимальной скоростью.
3. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при макс. об/мин, после чего удалить супернатант.

#### **Ресуспендирование**

1. Добавить к каждому осадку 500 мкл ресуспендирующего буфера и разрушить конгломерат частиц с помощью пипетирования.
2. Перенести суспензию в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.
3. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 5 минут.
4. 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 3 минут, после чего аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.
4. Повторить пункты 1-3.
5. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 2.
6. Повторить пункты 2-3.
7. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате при 56-60°C в течение 5-10 минут до полного испарения промывочного раствора.

#### **Элюция НК**

1. Добавить в пробирки 40-60 мкл элюирующего буфера.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать в термостате при температуре 56-60°C в течение 5 минут, периодически встряхивая.
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  $\geq 1,7$ .