



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

#metamilkTest-10 #metamilk-50

Набор реагентов предназначен для выделения метагеномной ДНК из проб молока 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. Промывочный буфер 1 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
4. Промывочный буфер 2 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
5. Промывочный буфер 3 – для промывки нуклеиновых кислот от органических примесей и солей;
6. Элюирующий буфер – для элюции и хранения НК, pH=8,9;
7. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса;
8. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «Meta Milk» 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; 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

Проведение процедуры выделения ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить 300 мкл исследуемых проб молока.
2. Добавить к образцам 100 мкл лизирующего буфера и 20 мкл Протеиназы К.
3. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе.
4. Инкубировать в термостате при температуре 56-60°C в течение 30-60 минут, периодически перемешивая.
5. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

Сорбция НК

1. Добавить в пробирки 800 мкл связывающего буфера и 50 мкл магнитных частиц.
2. Инкубировать пробирки в течение 10-15 минут при комнатной температуре, периодически перемешивая.
3. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 2 минут.
5. Аккуратно, не задевая частицы, 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 частицы, удалить супернатант.
4. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 2.
5. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
6. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 3 минут, после чего аккуратно, не задевая частицы, удалить супернатант.
7. Повторить пункты 4-6.
8. Добавить в пробирки 500 мкл промывочного буфера 3.
9. Повторить пункты 5-6.
10. 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 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 соответствуют $\geq 1,7$.