



Инструкция по применению набора для выделения ДНК из пищевых продуктов и сыра

На 50 выделений

Состав набора:

Микроколони	50 шт
2 мл пробирки	50 шт
Буфер для экстракции	50 мл
Протеиназа К	10 мг
Раствор ацетата калия	5 мл
РНКаза А	100 мкл
Раствор для сорбции	50 мл
Раствор для промывки 1	35 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл
Раствор для элюции	20 мл

Примечание:

- Возможно выпадение осадка в **Растворе для сорбции**. Для растворения осадка раствор необходимо прогреть в течение 5-10 минут при $t^0=55-56^{\circ}\text{C}$. **Нельзя нагревать раствор более 65°C .**
- В **Раствор для промывки 2** перед использованием необходимо добавить 35 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В пробирку с протеиназой К добавить 500 мкл воды. Рекомендуется расфасовать по 10 мкл и хранить при -20°C .
- Если дополнительно не указано, то все этапы выделения выполняются при комнатной температуре.

1. В пробирку объемом 1.5 мл поместить 100-150 мг анализируемого образца.
2. Добавить 1 мл **Буфера для экстракции** и 10 мкл **Раствора протеиназы К**. Инкубировать 1 ч при 65°C , аккуратно перемешивая через 5-10 мин. Центрифугировать 5 мин при 15000 г, перенести супернатант в новую пробирку.
3. Добавить 100 мкл **Раствора ацетата калия**, тщательно перемешать, инкубировать на льду 15 мин. Центрифугировать 15 мин при 4°C , при 15000 г. Перенести супернатант в новую пробирку.
4. Добавить 500 мкл **Хлороформа** (не предоставляется), тщательно перемешать, центрифугировать 5 мин при 15000 г. Перенести супернатант в новую пробирку.
5. Повторить шаг 4.
6. Добавить 1 мкл **Раствора РНК-азы А**, инкубировать 30 мин при 37°C .
7. Добавить равный объем **Раствора для сорбции**, перемешать на Vortex.
8. Внести в колонку с фильтром 100 мкл **Раствора для промывки**. Центрифугировать 10 сек при 1000 об/мин.
9. Внести в колонку анализируемый образец. Центрифугировать 1 мин при 1000 об/мин.

Необходимо учитывать, что объем колонки составляет 650 мкл. Если объем выделяемого образца превышает 650 мкл, последовательно нанести на фильтр весь образец, каждый раз удаляя фильтрат из 2 мл пробирки-приемника.

10. Нанести на фильтр 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугировать 10 сек при 5000 об/мин. Удалить фильтрат.
11. Нанести на фильтр 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугировать 30 сек при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
12. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугировать 30 сек при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
13. Повторить п.12.

14. Центрифугировать пробирку с микроколонкой 30 секунд при 13000 об/мин для удаления остатков раствора.
15. Извлечь микроколонку и поместить ее в новую пробирку объемом 1.5 мл. Поставить новые пробирки с микроколонками в штатив.
16. Нанести на фильтр 200 мкл **Раствора для элюции**. Инкубировать микроколонку 3-5 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать 1 мин при 1000 об/мин и 1 минуту при 13000 об/мин.
17. Полученный раствор содержит очищенную ДНК.

Полученные образцы готовы к постановке ПЦР, секвенирования, рестрикции, лигирования и прочих реакций. Образцы могут быть использованы либо немедленно, либо в течение месяца при хранении при -20°C .

Сроки годности и особенности хранения:

- Все растворы хранить при $+15-25^{\circ}\text{C}$;
- Пробирки и микроколонки хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора - 12 месяцев, начиная с даты изготовления.

Рекомендованные протоколы пробоподготовки образцов различных пищевых продуктов:

Выделение ДНК из соевых бобов

1. 400-500 мг зерен соевых бобов поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 5-7 мкг ДНК.

Выделение ДНК из зерен кукурузы

1. 400-500 мг зерен кукурузы поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 5-10 мкг ДНК.

Выделение ДНК из клубней картофеля

1. Клубни картофеля помыть в проточной воде и порезать скальпелем на фрагменты размером 1x1x1 мм. Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 500 мг фрагментов клубней картофеля и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 1-2 мкг ДНК.

Выделение ДНК из свежих плодов томата

1. Плоды томата помыть в проточной воде и порезать скальпелем на фрагменты размером 1x1x1 мм. Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 500 мг фрагментов плодов томата и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 1-2 мкг ДНК.

Выделение ДНК из зерен пшеницы

1. 400-500 мг зерен пшеницы поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 20-30 мкг ДНК.

Выделение ДНК из корнеплодов сахарной свеклы

1. Корнеплоды сахарной свеклы помыть в проточной воде и порезать скальпелем на фрагменты размером 1x1x1 мм. Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 500 мг фрагментов сахарной свеклы и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 3-4 мкг ДНК.

Выделение ДНК из колбасы

1. Колбасу порезать скальпелем на фрагменты размером 1x1x1 мм (Если в колбасе содержится большое количество сала, рекомендуется крупные фрагменты сала удалить скальпелем или пинцетом). Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 500 мг фрагментов колбасы и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 12-15 мкг ДНК.

Выделение ДНК из шоколада

1. Взвесить 100 мг шоколада и поместить в пробирку объемом 1.5 мл. Инкубировать пробирку при 65°C в течение 20 мин.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 1-2 мкг ДНК.

Выделение ДНК из сухой детской смеси

1. Взвесить 100 мг сухой детской смеси и поместить в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 2-3 мкг ДНК.

Выделение ДНК из песочного печенья из пшеничной муки

1. 400-500 мг печенья поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 12-15 мкг ДНК.

Выделение ДНК из кукурузных хлопьев

1. 400-500 мг кукурузных хлопьев поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 1-2 мкг ДНК.

Выделение ДНК из маринованных помидор

1. Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 400-500 мг маринованных помидор и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 1-2 мкг ДНК.

Выделение ДНК из томатной пасты

1. Взвесить 100 мг томатной пасты в пробирке объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 0,5-1 мкг ДНК.

Выделение ДНК из йогурта

1. Взвесить 100 мг йогурта в пробирке объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 0,5-1 мкг ДНК.

Выделение ДНК из тофу

1. Тофу порезать скальпелем на фрагменты размером 1x1x1 мм. Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 500 мг фрагментов тофу и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 10-12 мкг ДНК.

Выделение ДНК из маринованной кукурузы

1. Налить в ступку жидкого азота, поместить туда 500 мг маринованной кукурузы и растереть пестиком, предварительно охлажденным в жидком азоте, до гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 4-6 мкг ДНК.

Выделение ДНК из сухого картофельного быстрорастворимого пюре

1. 400-500 мг сухого пюре поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка*. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 1-2 мкг ДНК.

Выделение ДНК из семян сахарной свеклы

1. 400-500 мг семян сахарной свеклы поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 6-7 мкг ДНК.

Выделение ДНК из зерен риса

1. 400-500 мг зерен риса поместить в ступку и растереть пестиком до получения гомогенного мелкого порошка*. Взвесить 100 мг порошка и перенести его в пробирку объемом 1.5 мл (Eppendorf)

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 4-6 мкг ДНК.

Выделение ДНК из сухого соевого молока

1. Взвесить 100 мг соевого молока в пробирке объемом 1.5 мл.

2. Далее – по общему протоколу, начиная с п. 2.

Выход – 0,1-0,5 мкг ДНК.