

**Комплект реагентов для выделения ДНК
Проба-ГС**

Предназначен для работы с культурами бактерий, смывами с твердых питательных сред, цистами, а также материалом, в котором присутствует значительное количество ингибирующих примесей.

Метод основан на использовании для лизиса клеток сильного хаотропного агента - гуанидина тиоцианата (GuSCN), и последующей сорбции ДНК на носителе (стеклянные бусы, диатомовая земля, стеклянное «молоко» и т.д.). После отмывок в пробе остается ДНК, сорбированная на носителе, с которого она легко снимается с помощью элюирующего раствора. Метод удобен, технологичен и пригоден для подготовки образца к амплификации. Однако возможны потери ДНК вследствие необратимой сорбции на носителе, а также в процессе многочисленных отмывок. Особенно большое значение это имеет при работе с небольшими количествами ДНК в образце. Кроме того, даже следовые количества GuSCN могут ингибировать ПЦР. Поэтому при использовании этого метода очень важно тщательное соблюдение технологических нюансов. Следует отметить, что из-за большого количества стадий добавления и удаления растворов при работе с образцом требуется аккуратность, т.к. возможна перекрестная контаминация между пробами образующейся аэрозолью ДНК.

Состав (на 50 реакций)

Реактив	Количество	
• Лизирующий раствор	7,5 мл	1 флакон
• Сорбент	1,0 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №1	10 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	10 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №3	10 мл	1 флакон
• Элюирующий раствор	5 мл	1 флакон

Инструкция по применению

При выделении ДНК из мицелия гриба или растительной ткани достаточно в 50 мкл лизирующего буфера набора «Проба-ГС» гомогенизировать 25-50 мг ткани.

При выделении ДНК из смывов с зерна, предварительно необходимо приготовить смыв. Отбор проб зерна проводят в соответствии с ГОСТ.

В общем случае, необходимо приготовить гомогенат анализируемого образца в лизирующем буфере. Объем лизирующего буфера, используемый для гомогенизации учитывайте при дальнейшем добавлении лизирующего буфера до 150 мкл.

Внимание! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо провести пробоподготовку отрицательного контрольного образца (ОК). Для этого в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл внести 50 мкл физиологического раствора стерильного и выполнить пп.3-20 настоящей инструкции.

1. Для обработки нескольких образцов с учётом ОК (N), смешайте в отдельной пробирке 150x(N+1) мкл лизирующего раствора и 20x(N+1) предварительно ресуспендированного сорбента.
2. Добавьте по 170 мкл полученной смеси в каждую пробирку с образцом и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
3. Термостатируйте пробирку в течение 20 мин при 50°C.
4. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
5. Удалите надосадочную жидкость.
6. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №1 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
7. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
8. Удалите надосадочную жидкость.
9. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №2 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
10. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
11. Удалите надосадочную жидкость.
12. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №3 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
13. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
14. Удалите надосадочную жидкость.
15. Откройте крышку пробирки и термостатируйте пробирку в течении 5 мин при 50°C.
16. Добавьте к осадку 100 мкл элюирующего раствора и встряхните пробирку на вортексе в течение 5-10 с.
17. Термостатируйте пробирку в течение 5 мин при 50°C.
18. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин. Если образец предполагается хранить, перенесите надосадочную жидкость в новую пробирку.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации.

Примечание: в лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка; перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона в течение 15-20 мин при 50°C.



Комплект реагентов для выделения ДНК

Проба-ГС

Предназначен для работы с культурами бактерий, смывами с твердых питательных сред, цистами, а также материалом, в котором присутствует значительное количество ингибирующих примесей.

Метод основан на использовании для лизиса клеток сильного хаотропного агента - гуанидина тиоцианата (GuSCN), и последующей сорбции ДНК на носителе (стеклянные бусы, диатомовая земля, стеклянное «молоко» и т.д.). После отмывок в пробе остается ДНК, сорбированная на носителе, с которого она легко снимается с помощью элюирующего раствора. Метод удобен, технологичен и пригоден для подготовки образца к амплификации. Однако возможны потери ДНК вследствие необратимой сорбции на носителе, а также в процессе многочисленных отмывок. Особенно большое значение это имеет при работе с небольшими количествами ДНК в образце. Кроме того, даже следовые количества GuSCN могут ингибировать ПЦР. Поэтому при использовании этого метода очень важно тщательное соблюдение технологических нюансов. Следует отметить, что из-за большого количества стадий добавления и удаления растворов при работе с образцом требуется аккуратность, т.к. возможна перекрестная контаминация между пробами образующейся аэрозолью ДНК.

Состав (на 50 реакций)

Реактив	Количество	
• Лизирующий раствор	7.5 мл	1 флакон
• Сорбент	1,0 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №1	10 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	10 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №3	10 мл	1 флакон
• Элюирующий раствор	5 мл	1 флакон

Инструкция по применению

При выделении ДНК из мицелия гриба или растительной ткани достаточно в 50 мкл лизирующего буфера набора «Проба-ГС» гомогенизировать 25-50 мг ткани.

При выделении ДНК из смывов с зерна, предварительно необходимо приготовить смыв. Отбор проб зерна проводят в соответствии с ГОСТ.

В общем случае, необходимо приготовить гомогенат анализируемого образца в лизирующем буфере. Объем лизирующего буфера, используемый для гомогенизации учитывайте при дальнейшем добавлении лизирующего буфера до 150 мкл.

Внимание! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо провести пробоподготовку отрицательного контрольного образца (ОК). Для этого в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл внести 50 мкл физиологического раствора стерильного и выполнить пп.3-20 настоящей инструкции.

1. Для обработки нескольких образцов с учётом ОК (N), смешайте в отдельной пробирке 150x(N+1) мкл лизирующего раствора и 20x(N+1) предварительно ресуспендированного сорбента.
2. Добавьте по 170 мкл полученной смеси в каждую пробирку с образцом и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
3. Термостатируйте пробирку в течение 20 мин при 50°C.
4. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
5. Удалите надосадочную жидкость.
6. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №1 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
7. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
8. Удалите надосадочную жидкость.
9. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №2 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
10. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
11. Удалите надосадочную жидкость.
12. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №3 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3-5 с.
13. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
14. Удалите надосадочную жидкость.
15. Откройте крышку пробирки и термостатируйте пробирку в течении 5 мин при 50°C.
16. Добавьте к осадку 100 мкл элюирующего раствора и встряхните пробирку на вортексе в течение 5-10 с.
17. Термостатируйте пробирку в течение 5 мин при 50°C.
18. Центрифугируйте пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин. Если образец предполагается хранить, перенесите надосадочную жидкость в новую пробирку.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации.

Примечание: в лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка; перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона в течение 15-20 мин при 50°C.