

Наборы diaGene для выделения ДНК и РНК

- Кат.№ 3316 для выделения плазмидной ДНК из бактерий
- Кат.№ 3317 для выделения РНК из культур клеток
- Кат.№ 3318 для выделения геномной ДНК из культур бактериальных клеток
- Кат.№ 3319 для выделения ДНК из культур клеток
- Кат.№ 3320 для выделения ДНК из пищевых продуктов и сыра
- Кат.№ 3321 для выделения ДНК из плазмы крови
- Кат.№ 3322 для выделения ДНК из соскобов букального эпителия
- Кат.№ 3323 для выделения ДНК из цельной крови
- Кат.№ 3324 для выделения РНК из плазмы крови
- Кат.№ 3326 для элюции ДНК из агарозного геля
- Кат.№ 3352 для выделения ДНК из растительной ткани
- Кат.№ 3361 для выделения ДНК из цельной крови
- Кат.№ 3367 для выделения ДНК из сперматозоидов
- Кат.№ 3403 для выделения ДНК из слюны
- Кат.№ 3489 для выделения ДНК из широкого спектра биологических образцов

Набор diaGene для выделения ДНК из пищевых продуктов и сыра

Состав набора

| | 50 выделений Кат.№ 3320.0050 | 250 выделений Кат.№ 3320.0250 |
|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Буфер для экстракции | 50 мл | 3 x 84 мл |
| Ацетат калия | 5 мл | 30 мл |
| Раствор для сорбции | 50 мл | 3 x 84 мл |
| Раствор для промывки 1 | 35 мл | 2 x 88 мл |
| Раствор для промывки 2 | 15 мл | 3 x 30 мл |
| Раствор для элюции | 20 мл | 100 мл |
| РНКаза А | 0.1 мл | 0.5 мл |
| Протеиназа К | 10 мг | 5 x 10 мг |
| Микроколоники | 50 шт. | 5 x 50 шт. |
| 2 мл пробирки для сбора фильтрата | 50 шт. | 5 x 50 шт. |

Принцип действия

Выделение ДНК из пищевых продуктов и сыра начинается с гомогенизации образцов. Гомогенизацию можно проводить как вручную, так и с помощью автоматических мельниц или гомогенизаторов. Гомогенат инкубируется с протеиназой К и освобождается от большей части углеводов. Затем происходит очистка ДНК на спин-колонках. ДНК избирательно связывается с фильтром колонки в присутствии хаотропной соли. Связанная ДНК отмывается от примесей и элюируется в виде чистого препарата, пригодного для большинства молекулярно-биологических манипуляций, например, ПЦР. Сорбент позволяет выделять до 25 мкг свободной от примесей ДНК.

Дополнительное оборудование и реагенты

- Ступка с пестиком (для ручной гомогенизации) или автоматическая мельница.
- Твердотельный термостат, желательнее с функцией перемешивания.
- Микроцентрифуга для пробирок типа эппендорф ёмкостью 1.5-2 мл с максимальной скоростью центрифугирования не менее 13000 об/мин.
- Дозаторы переменного объёма и наконечники к ним.
- Стерильные пробирки типа эппендорф ёмкостью 1.5 мл, свободные от нуклеаз.
- 96-100% этанол.
- Хлороформ
- Жидкий азот (для ручной гомогенизации)
- Деионизованная автоклавированная вода или вода, свободная от нуклеаз

Все реагенты, за исключением РНКазы А и протеиназы К после растворения, хранятся при комнатной температуре (+15 - +25°C). Растворы протеиназы К и РНКазы А рекомендуется хранить при -20°C. Пакет со спин-колонками необходимо плотно закрывать после каждого использования.

Перед началом работы

- Добавьте 96-100% этанол в **Раствор для промывки 2** (35 мл для набора на 50 выделений, 70 мл в каждый флакон для набора на 250 выделений). Тщательно перемешайте.
- Проверьте, не выпал ли осадок в **Растворе для сорбции**. В случае выпадения осадка раствор перед использованием необходимо прогреть в течение 5-10 минут при +55°C и перемешать до его растворения.
Не нагревать свыше +65°C!
- В каждую пробирку с **протеиназой К** добавьте 500 мкл деионизованной воды. Неиспользованный раствор **протеиназы К** рекомендуется расфасовать по 50-100 мкл и хранить при -20°C.

Общий протокол выделения ДНК из пищевых продуктов

- 1 В пробирку объёмом 1.5 мл поместите 100-150 мг гомогенизированного исследуемого образца.
- 2 Добавьте 1 мл **Буфера для экстракции** и 10 мкл **протеиназы К**. Инкубировать 1 час при +56°C, аккуратно перемешивая образцы каждые 5-10 минут. Центрифугируйте 5 минут при 13000 об/мин, перенесите супернатант в пробирку на 1.5 мл.

Выделение ДНК из маринованных помидоров

1. Налейте в ступку жидкий азот, поместите туда 400-500 мг маринованных помидоров и разотрите пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 1-2 мкг.

Выделение ДНК из томатной пасты

1. Взвесьте 100 мг томатной пасты в пробирке на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 0.5-1 мкг.

Выделение ДНК из йогурта

1. Взвесьте 100 мг йогурта в пробирке на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 0.5-1 мкг.

Выделение ДНК из тофу

Порежьте тофу скальпелем на фрагменты 1 мм³. Налейте в ступку

1. пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2

Выход ДНК – 10-12 мкг

Срок годности и особенности хранения

Условия хранения: при комнатной температуре (+15 – +25 °C).

РНКазу А хранить при -20 °C.

Протеиназу К хранить: до растворения хранить при +2...+8 °C, после растворения при -20 °C.

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

При транспортировке особые условия не требуются.

Выделение ДНК из сухого картофельного быстрорастворимого пюре

1. Поместите в ступку 400-500 мг пюре и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 1-2 мкг.

Выделение ДНК из семян сахарной свёклы

1. Поместите в ступку 400-500 мг семян и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 6-7 мкг.

Выделение ДНК из зёрен риса

1. Поместите в ступку 400-500 мг зёрен и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 4-6 мкг.

Выделение ДНК из сухого соевого молока

1. Взвесьте 100 мг сухого молока в пробирке на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 0.1-0.5 мкг.

Выделение ДНК из песочного печенья из пшеничной муки

1. Поместите в ступку 400-500 мг печенья и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 12-15 мкг.

Выделение ДНК из кукурузных хлопьев

1. Поместите в ступку 400-500 мг хлопьев и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 1-2 мкг.

3 Добавьте 100 мкл **ацетата калия**, тщательно перемешайте и инкубируйте во льду 15 минут. Центрифугируйте 15 минут при 4°C и 13000 об/мин. Перенесите супернатант в новую пробирку на 2 мл.

4 Добавьте 500 мкл хлороформа (не входит в набор), тщательно перемешайте и центрифугируйте 5 минут при 13000 об/мин. Перенесите супернатант в новую пробирку.

5 Повторите п. 4.

6 Добавьте 1 мкл раствора **РНКазы А**, инкубируйте 30 минут при +37°C.

7 Добавьте равный объём **Раствора для сорбции**, перемешайте на Вортексе.

8 Поместите микроколону в пробирку для сбора фильтрата. Внесите в колонку 100 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугируйте 10 сек при 1000 об/мин.

9 Внесите в колонку анализируемый образец. Центрифугируйте 1 минуту при 1000 об/мин. Удалите фильтрат.

Необходимо учитывать, что объём колонки составляет 650 мкл. Если объём образца превышает 650 мкл, последовательно нанести образец на колонку, удаляя каждый раз фильтрат из пробирки для сбора фильтрата.

10 Нанесите на фильтр колонки 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугируйте 10 сек при 5000 об/мин. Удалите фильтрат.

11 Нанесите на фильтр колонки 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугируйте 30 сек при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.

12 Нанесите на фильтр колонки 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 30 сек при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.

13 Повторите п. 12.

14 Центрифугируйте микроколону 1 минуту при 13000 об/мин, чтобы удалить остатки раствора.

15 Поместите микроколону в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите на фильтр 200 мкл Раствора для элюции и инкубируйте колонку при комнатной температуре 3-5 минут. Центрифугируйте колонку 1 минуту при 1000 об/мин и 1 минуту при 13000 об/мин.

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

Рекомендованные протоколы пробоподготовки различных пищевых продуктов

Выделение ДНК из соевых бобов

1. Поместите в ступку 400-500 мг соевых бобов и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 5-7 мкг.

Выделение ДНК из зёрен кукурузы

1. Поместите в ступку 400-500 мг зёрен кукурузы и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 5-10 мкг.

Выделение ДНК из клубней картофеля

1. Клубни картофеля вымойте в проточной воде и порежьте скальпелем на фрагменты 1 мм³. Налейте в ступку жидкий азот, поместите туда 500 мг фрагментов клубней картофеля и разотрите пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 1-2 мкг.

Выделение ДНК из свежих плодов томата

1. Плоды томата вымойте в проточной воде и порежьте скальпелем на фрагменты 1 мм³. Налейте в ступку жидкий азот, поместите туда 500 мг фрагментов плодов томата и разотрите пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 1-2 мкг.

Выделение ДНК из зёрен пшеницы

1. Поместите в ступку 400-500 мг соевых бобов и разотрите пестиком до получения гомогенного мелкого порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 20-30 мкг.

Выделение ДНК из корнеплодов сахарной свёклы

1. Корнеплоды сахарной свёклы вымойте в проточной воде и порежьте скальпелем на фрагменты 1 мм³. Налейте в ступку жидкий азот, поместите туда 500 мг фрагментов корнеплодов и разотрите пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 3-4 мкг.

Выделение ДНК из колбасы

1. Колбасу порежьте скальпелем на фрагменты 1 мм³. Если в колбасе содержится большое количество сала, рекомендуется крупные фрагменты сала удалить пинцетом или скальпелем. Налейте в ступку жидкий азот, поместите туда 500 мг фрагментов колбасы и разотрите пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 12-15 мкг.

Выделение ДНК из шоколада

1. Взвесьте 100 мг шоколада и поместите в пробирку на 1.5 мл. Инкубируйте пробирку при +65°C в течение 20 мин.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 1-2 мкг.

Выделение ДНК из сухой смеси для детского питания

1. Взвесьте 100 мг смеси и поместите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 2-3 мкг.

Выделение ДНК из маринованной кукурузы

1. Налейте в ступку жидкий азот, поместите туда 400-500 мг маринованной кукурузы и разотрите пестиком, охлаждённым в жидком азоте, до гомогенного порошка. Взвесьте 100 мг порошка и перенесите в пробирку на 1.5 мл.
2. Далее – по общему протоколу, начиная с п.2.

Выход ДНК – 4-6 мкг.