

Информация о продукте

Набор для выделения РНК из мазка/соскоба эпителиальных клеток, вирусов на магнитных частицах (NAmagp100, NAmagp200, NAmagp2000)

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом.

Протокол обновлён 6.08.2020.

Описание продукта

Набор предназначен для выделения и очистки РНК из мазков или соскобов эпителиальных клеток, вирусов. Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на магнитных частицах на основе оксида железа и оксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта. В процессе выделения целостность РНК сохраняется. Возможно выделение до 20-30 мкг РНК на 10 мкл магнитных частиц.

Важно! Выделенная РНК содержит примесь ДНК. При использовании РНК в приложениях, чувствительных к наличию ДНК, например, ПЦР обязательна обработка ДНКазой.

Состав набора

Кат. №	NAmagp100	NAmagp200	NAmagp2000
Кол-во выделений	100	200	2000
Буфер для лизиса LB	45 мл	90 мл	900 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	22 мл	2x22 мл	420 мл
Буфер для элюции EB	2x5 мл	20 мл	200 мл
Магнитные частицы (суспензия)	1.2 мл	2.4 мл	24 мл

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы для лизиса LB и для промывки WB1 содержат раствор хаотропной соли, оказывающий раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичен при попадании на кожу и внутрь. Вызывает ожоги.

При попадании на кожу промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости покажитесь врачу.

Условия хранения

Набор для выделения РНК может храниться при комнатной температуре (15-25 °С) в течение 12 месяцев. Магнитные частицы хранить при 2-8 °С в течение 12 месяцев.

Условия транспортировки

Набор для выделения РНК, в том числе и магнитные частицы, можно перевозить при комнатной температуре (15-25 °С)

Материалы и оборудование необходимые для работы

Магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок на 1.5-2 мл

Нагревательный блок, поддерживающий температуру до 65 °С

Микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл

Этанол, 96-99% раствор

Перед началом работы:

- **Важно!** Если в буфере LB образовался осадок, то инкубировать буфер при 30-50 °С с периодическим перемешиванием до полного растворения осадка.
- Подготовка буфера WB. Добавить 96-99% этанола к буферу WB, перемешать. Для получения 500 мкл буфера WB к 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл этанола.
К 22 мл буфера WB (концентрат) добавить 88 мл этанола, чтобы получить 110 мл буфера WB.
К 420 мл буфера WB (концентрат) добавить 1680 мл этанола, чтобы получить 2100 мл буфера WB.

Важно! Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Протокол выделения РНК.

Выделение РНК проводится при комнатной температуре (15-25 °С).

Лизис образца.

1. Отобрать аликвоту объемом 100-200 мкл физраствора или транспортной среды после инкубации ватной палочки с соскобом или мазком эпителиальных клеток. Добавить 4 объема (400-800 мкл) буфера для лизиса LB. Тщательно перемешать пипетированием, избегая пенообразования. Инкубировать 10 минут.

Сорбция образца на магнитных частицах.

1. Ресуспендировать магнитные частицы перемешиванием вручную или на вортексе до образования однородной суспензии.

2. К лизату добавить равный объем этанола. Например, при подготовке лизата использовали 100 мкл образца и 400 буфера для лизиса – необходимый объем этанола равен 500 мкл. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной смеси.

3. К образцу из п. 2 добавить 10 мкл суспензии магнитных частиц, сразу же перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии. Инкубировать 10 мин.

4. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 10 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

5. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

Промывка магнитных частиц.

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 500 мкл буфера для промывки WB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5-10 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

4. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

5. Повторить п. 1-4.

6. Сушить пробирку с магнитными частицами на воздухе при 65 °С 10 минут или до полного высыхания (устранения запаха спирта).

Элюция РНК.

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 50-100 мкл буфера для элюции EB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии. Инкубировать 10 мин при 65 °С.

Примечание: Буфер для элюции – вода, очищенная от РНКаз.

2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 10 мин.

3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать, не задевая магнитные частицы, и перенести супернатант, содержащий РНК, в чистую пробирку.

4. Элюат, содержащий РНК, хранить при -20 °С.

Анализ выделенной РНК.

Целостность выделенной РНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной РНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для РНК при $\lambda = 260$ нм.

Посчитать концентрацию РНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 40$ мкг/мл.

Характерные соотношения оптической плотности $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.

ООО «Биолабмикс»
630090 г. Новосибирск,
Ул., Инженерная, 28
Тел.: +7 (383) 363-51-91
www.biolabmix.ru
sales@biolabmix.ru