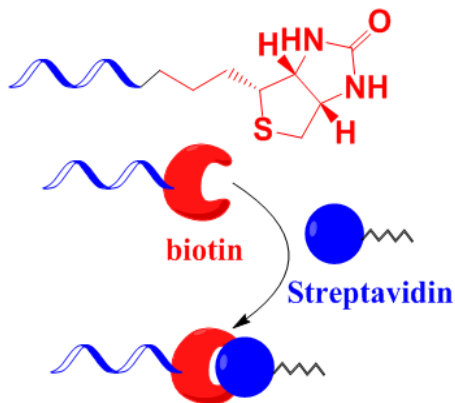


Набор для введения модификации биотина в 3' положение РНК

Кат. номер LBL-RNA-3-2, LBL-RNA-10-2

Описание:

Набор предназначен для введения модификации биотина по 3'-ОН группе молекулы РНК. Биотин образует устойчивый комплекс с белком стрептавидином, что используют для решения различных задач в молекулярной биологии. Например, введение модификации биотина в структуру РНК позволит селективно выделить меченные молекулы на сорбентах или магнитных частицах с иммобилизованным стрептавидином.



Состав набора:

	LBL-RNA-3-2 на 3 реакции	LBL-RNA-10-2 на 10 реакций
Активированный биотин	15 мкл	50 мкл
Буфер для реакции окисления	100 мкл	200 мкл
Буфер для реакции с биотином	100 мкл	200 мкл
Окислитель	100 мг	300 мг
Буфер для осаждения	100 мкл	200 мкл
Вода, обработанная DEPC	2x1500 мкл	3x1500 мкл

Реактивы и оборудование необходимые для работы

- центрифуга, способная достигать скорости не менее 16000 rcf;
- весы аналитические с точностью до 1 мг;
- полиэтиленовые микроцентрифужные пробирки объёмом 0,5 – 2 мл;
- набор автоматических дозаторов;
- этиловый спирт, 96%.

Перед началом работы

Приготовление раствора окислителя:

- 1) На весах взять навеску 10 – 30 мг окислителя в пробирке объёмом 1,5 мл.
- 2) Затем в пробирку к окислителю добавить воду, обработанную DEPC.

Количество воды рассчитать по формуле:

$$\text{Объём воды (мл)} = \frac{\text{масса навески (мг)}}{85}$$

3) Перемешать содержимое пробирки до полного растворения кристаллов. Раствор окислителя рекомендуется хранить при **комнатной температуре** не более 7 дней с момента приготовления. При более низких температурах выпадает осадок (!).

Охладить 96% этиловый спирт до температуры от -19 °С до -25 °С.

Приготовление 1000 мкл промывочного раствора:

В пробирку объёмом 1,5 мл добавить 800 мкл 96% этилового спирта и 200 мкл воды, обработанной DEPC. Перемешать.

Протокол (1 реакция)

1. Окисление РНК.

- 1) В пробирку вместимостью 0,5 – 1,5 мл добавить 10 мкл буфера для реакции окисления.
- 2) Добавить 1 – 20 мкл образца, содержащего 5 – 150 мкг РНК.
- 3) Добавить 5 мкл готового раствора окислителя.
- 4) Довести реакционную смесь водой, обработанной DEPC, до 50 мкл.
- 5) Перемешать содержимое пробирки и инкубировать в течение 1 ч в темном месте при комнатной температуре (20 – 30 °С).

2. Промежуточная очистка РНК.

- 1) В пробирку с окисленной РНК добавить 5 мкл буфера для осаждения и 150 мкл 96% этанола, предварительно охлажденного до -19 °С. Перемешать встряхиванием.
- 2) Инкубировать образец при температуре от -19 °С до -25 °С в течение 15-30 минут.
- 3) Центрифугировать образец в течение 20 – 30 мин при 16000 rcf и температуре 4 °С.

- 4) Аккуратно, дозатором удалить надосадочную жидкость и внести 200 мкл промывочного раствора. Инкубировать с раствором 0.5 - 1 минуту при комнатной температуре.
- 5) Удалить промывочный раствор. Оставить пробирку с осадком РНК с открытой крышкой в темном месте на 15 – 20 минут для высушивания.

3. Введение модификации биотина в РНК.

- 1) В пробирку с осадком РНК добавить 35 мкл воды, обработанной DEPC. Перемешать с помощью дозатора до полного растворения осадка.
- 2) Добавить 10 мкл буфера для реакции с биотином.
- 3) Добавить 5 мкл активированного биотина.
- 4) Перемешать содержимое пробирки и инкубировать в течение **ночи** в темном месте при комнатной температуре (20 – 30 °С).

4. Очистка меченой биотином РНК.

Для очистки РНК от компонентов реакции с красителем выполнить **пункт 2** данного протокола.

После высушивания осадка добавить необходимое количество воды, обработанной DEPC, и перемешать. Далее измерить концентрацию РНК любым удобным способом.

Примечание: при применении набора для введения модификации биотина в 100 мкг РНК будет получен препарат, содержащий 70 – 90 мкг РНК с содержанием меченой РНК 40 – 70%.

Условия хранения

Хранить при температуре -20 °С. Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортирования

Транспортировку набора производить при температуре -20 °С (допускается транспортировка при 4 °С не более 3х суток).