Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

Набор для выделения РНК на магнитных частицах (модифицированный)

Кат. номер MRP100, MRP200, MRP2000

Ручной и автоматический способы выделения РНК

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с набором, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с набором. Последняя версия протокола доступна на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru). Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.
Протокол обновлён 14.02.2024.

Описание

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.
Выделение РНК возможно как ручным способом, с помощью магнитного штатива, так и автоматическим способом, с использованием автоматических станций Auto-Pure96 (Allsheng) и KingFisher Flex (ThermoScientific).

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

Важно! Отличие «Набор для выделения РНК на магнитных частицах» (Кат. № MRP100, MRP200, MRP2000) от «Набор для выделения РНК на магнитных частицах» (Кат. № NAmagp100, NAmagp200, NAmagp2000) заключается в том, что буферы для лизиса (LB) и промывки (WB) в позициях Кат. № MRP100, MRP200, MRP2000 содержат в составе изопропанол. Не требуется использование этанола и каких-либо других реагентов. Буферы готовы к работе.

Время выделения с использованием автоматических станций Auto-Pure96 (Allsheng) и KingFisher Flex (ThermoScientific) **составляет 20 минут.**

Состав набора

Каталожный номер	MRP100	MRP200*	MRP2000**
Кол-во выделений	100	200	2000
Буфер для лизиса LB	80 мл	2x80 мл	20x80 мл
Буфер для промывки WB	55 мл	2x55 мл	20x55 мл
Буфер для элюции EB	15 мл	2x15 мл	20x15 мл
Магнитные частицы (суспензия)	1.2 мл	2x1.2 мл	20x1.2 мл

* MRP200 – поставляется 2 набора MRP100.

** MRP2000 – поставляется 20 наборов MRP100.

Меры предосторожности

Осторожно! Буфер для лизиса LB содержит 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.

Материалы и оборудование необходимые для работы

Ручной способ

- Магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок на 1.5-2 мл
- Нагревательный блок, поддерживающий температуру до 50°C
- Микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл

Автоматический способ

- Глубоколуночный планшет с V-образными лунками на 2 мл, 3-4 шт.
- Наконечники для магнитных стержней или гребёнка, 1 шт.

Перед началом работы:

- Важно! Если в буфере LB образовался осадок, то инкубировать буфер при 30-50 °C с периодическим перемешиванием до полного растворения осадка.
- При выделении РНК с использованием автоматической станции или из большого количества проб подготовить смесь буфера для лизиса (LB) и магнитных частиц (M).
  Смешать буфер для лизиса (LB) и магнитные частицы (M). Подготовить необходимый объём данной смеси, исходя из количества проб.

Примечание: рекомендуется увеличить полученный объём на 10%.

1 проба. 700 мкл буфера для лизиса LB, 10 мкл магнитных частиц, суммарный объём 710 мкл.

100 проб (+10%). 77 мл буфера для лизиса LB, 1.1 мл магнитных частиц, суммарный объём 78.1 мл.

Протокол выделения РНК. Ручной способ

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

1) Лизис образца

1. Отобрать аликвоту объёмом 100 мкл физраствора или транспортной среды после инкубации ватной палочки с соскобом или мазком эпителиальных клеток. Добавить 700 мкл буфера для лизиса LB. Тщательно перемешать пипетированием, избегая пенообразования.
2. Инкубировать 10 минут при 50 °С.

2) Сорбция образца на магнитных частицах

1. Ресуспендировать магнитные частицы перемешиванием вручную или на вортексе до образования однородной суспензии.
2. К лизату добавить 10 мкл суспензии магнитных частиц, сразу же перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
3. Инкубировать 10 мин.
4. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 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.

3) 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.
2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 мин.

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

3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.
4. Повторить п. 1-3.
5. Сушить пробирку с магнитными частицами на воздухе при 15-25 °С 5-15 минут или до полного высыхания (устранения запаха спирта).

4) 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 5 мин при 15-25 °С.

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

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

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

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, рекомендуется использовать в течение дня для анализа, до анализа хранить при +4 °С. Если анализ РНК планируется провести в другой день, то раствор РНК хранить при -20 °С.

Примечание: Анализ выделенной РНК можно провести с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени.

Примечание: Концентрацию выделенной РНК нельзя определить с помощью УФ-спектрометрии, рекомендуется использовать флуориметрические методы определения концентрации РНК.

Протокол выделения РНК. Автоматический способ. Auto-Pure96 (Allsheng)

1. Планшет, позиция № 2. Лизис. Добавить в лунку планшета 700 мкл ранее подготовленной смеси, содержащей буфер для лизиса LB и магнитные частицы (см. раздел «Перед началом работы»). Затем 100 мкл физраствора или транспортной среды после инкубации ватной палочки с соскобом или мазком эпителиальных клеток.
2. Планшет, позиция № 3. Промывка. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB.
3. Планшет, позиция № 8. Элюция РНК. Добавить в лунку планшета 100 мкл буфера для элюции EB.

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

4. Аккуратно поместить гребёнку в планшет на позиции №2, содержащий буфер для лизиса LB и образец.
5. Запустить программу «BAmag_T» на станции Auto-Prep96 (Allsheng).

Примечание: Файл «BAmag_T.txt» с программой для станции Auto-Prep96 (Allsheng) можно получить следующими способами:

- самостоятельно загрузить на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru), для удобства в поисковой строке указать каталожный номер продукта (MRP100);
- связаться с сотрудниками отдела продаж компании ООО «Биолабмикс» (sales@biolabmix.ru, тел. 8-800-600-88-76).

6. После завершения программы выделенная РНК будет находиться в планшете на позиции №8.
7. Элюат, содержащий РНК, рекомендуется использовать в течение дня для анализа, до анализа хранить при +4 °С. Если анализ РНК планируется провести в другой день, то раствор РНК хранить при -20 °С.

Примечание: Анализ выделенной РНК можно провести с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени.

Примечание: Концентрацию выделенной РНК нельзя определить с помощью УФ-спектрометрии, рекомендуется использовать флуориметрические методы определения концентрации РНК.

Протокол выделения РНК. Автоматический способ. KingFisher Flex (ThermoScientific)

1. Планшет 1. Лизис. Добавить в лунку планшета 700 мкл ранее подготовленной смеси, содержащей буфер для лизиса LB и магнитные частицы (см. раздел «Перед началом работы»). Затем 100 мкл физраствора или транспортной среды после инкубации ватной палочки с соскобом или мазком эпителиальных клеток.
2. Планшет 2. Промывка. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB.
3. Планшет 3. Элюция РНК. Добавить в лунку планшета 100 мкл буфера для элюции EB.

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

4. Аккуратно поместить гребёнку в планшет 1, содержащий буфер для лизиса LB и образец.
5. Запустить программу «BKmag_T» на станции KingFisher Flex (ThermoScientific).

Примечание: Файл «BKmag_T.bdz» с программой для станции KingFisher Flex (ThermoScientific) можно получить следующими способами:

- самостоятельно загрузить на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru), для удобства в поисковой строке указать каталожный номер продукта (MRP100);
- связаться с сотрудниками отдела продаж компании ООО «Биолабмикс» (sales@biolabmix.ru, тел. 8-800-600-88-76).

6. После завершения программы выделенная РНК будет находиться в планшете 3.
7. Элюат, содержащий РНК, рекомендуется использовать в течение дня для анализа, до анализа хранить при +4 °С. Если анализ РНК планируется провести в другой день, то раствор РНК хранить при -20 °С.

Примечание: Анализ выделенной РНК можно провести с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени.

Примечание: Концентрацию выделенной РНК нельзя определить с помощью УФ-спектрометрии, рекомендуется использовать флуориметрические методы определения концентрации РНК.

Условия хранения:

Набор для выделения РНК хранить при температуре от +15 до +25 °С. Магнитные частицы хранить при температуре 2-8 °С. Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора, производить при температуре от +15 до +25 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше +25°С в течение 14 суток.