

## Информация о продукте

### Набор для выделения РНК на колонках RU-10, RU-50, RU-250

#### Важно!

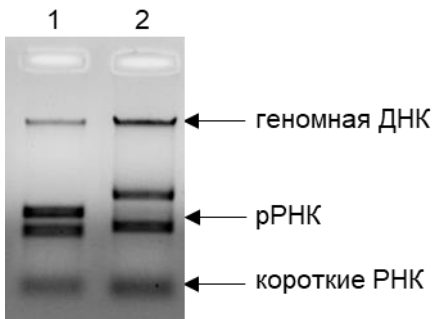
Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом.

Протокол обновлён 28.07.2022.

#### Описание продукта

Набор предназначен для выделения и очистки РНК из культур эукариотических и бактериальных клеток, мазков или соскобов эпителиальных клеток, вирусов. Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на кремниевой мембране, последующей промывке и элюции очищенного продукта. В процессе выделения целостность РНК сохраняется. Возможно выделение до 50 мкг РНК.

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



РНК, выделенная из бактериальных клеток (дорожка 1, 1 мг биомассы *E. coli*) и клеток человека (дорожка 2,  $1 \cdot 10^6$  клеток). Наносили около 500 нг НК на дорожку.



### Состав набора

	RU-10 10 выделений	RU-50 50 выделений	RU-250 250 выделений
Буфер для лизиса LB	5 мл	25 мл	2x60 мл
Буфер для промывки WB1 (концентрат)	1.65 мл	9 мл	2x21 мл
Буфер для промывки WB2 (концентрат)	1.1 мл	6 мл	2x14 мл
Буфер для элюции EB	5 мл	15 мл	50 мл
Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца	10 шт	50 шт	250 шт

### 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.

### Материалы и оборудование необходимые для работы

Центрифуга способная достигать скорости не менее 10000 gcf

Полипропиленовые микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл

Этанол, 96-99% раствор

2-меркаптоэтанол, 14.3 М раствор (коммерчески доступный раствор обычно имеет концентрацию 14.3 М) или альтернативный вариант – водный раствор 2 М дитиотриэтола (ДТТ).

### Перед началом работы:

- Подготовка буфера LB.  
Вариант 1. Добавить 10 мкл 2-меркаптоэтанола (2-ME) к 1 мл буфера LB. Буфер LB с 2-меркаптоэтанолом может храниться при 15-25 °С 1 месяц.  
Вариант 2. Добавить 20 мкл 2 М раствора дитиотриэтола (ДТТ) к 1 мл буфера LB. Буфер LB с дитиотриэтолом (ДТТ) может храниться при 15-25 °С 1 месяц. Использовать либо свежеприготовленный раствор 2 М ДТТ, либо однократно замороженные аликвоты.
- Подготовка буфера WB1. Добавить 96-99% этанола к буферу WB1, перемешать. Для получения 500 мкл буфера WB1 к 150 мкл буфера WB1 (концентрат) добавить 350 мкл этанола.

10 выделений. К 1.65 мл буфера WB1 (концентрат) добавить 3.85 мл этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB1.

50 выделений. К 9 мл буфера WB1 (концентрат) добавить 21 мл этанола, чтобы получить 30 мл буфера WB1.

250 выделений. К 21 мл буфера WB1 (концентрат) добавить 49 мл этанола, чтобы получить 70 мл буфера WB1.

- Подготовка буфера WB2. Добавить 96-99% этанола к буферу WB2, перемешать. Для получения 500 мкл буфера WB2 к 100 мкл буфера WB2 (концентрат) добавить 400 мкл этанола.

10 выделений. К 1.1 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 4.4 мл этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB2.

50 выделений. К 6 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 24 мл этанола, чтобы получить 30 мл буфера WB2.

250 выделений. К 14 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 56 мл этанола, чтобы получить 70 мл буфера WB2.

**Важно!** Рекомендуется добавлять этанол к аликвотам буферов WB1 и WB2, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Если планируется выделять РНК из грамположительных бактерий, приготовить раствор лизоцима с концентрацией 50 мг/мл в ТЕ буфере (0.01 M Tris-HCl (pH 8.0), 0.001 M EDTA).

### **Протокол выделения РНК.**

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

**Лизис образца. Осадок или суспензия эукариотических и бактериальных клеток.**

1. Осадок клеток ресуспендировать в 50 мкл PBS, добавить 350 мкл буфера для лизиса LB. Перемешать пипетированием. Инкубировать 5-10 минут.

**Важно:** при выделении РНК из грамположительных бактерий добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в ТЕ буфере (0.01 M Tris-HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0).

**Примечание:** не использовать более  $3\text{-}5 \cdot 10^6$  клеток млекопитающих и более  $1 \cdot 10^8$  бактериальным клеток.

**Примечание:** не забудьте предварительно добавить к буферу LB 2-меркаптоэтанол.

**Лизиса образца. Соскоб или мазок эпителиальных клеток.**

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

**Нанесение образца на колонку.**

1. К лизату добавить равный объем этанола.

2. Перенести лизат на колонку. Центрифугировать 30 с, 10000 gcf. Удалить фильтрат.



**Биолабмикс®**

**Примечание:** если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование, увеличив время и/или скорость центрифугирования. Если объем смеси лизата с этанолом более 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

#### **Промывка колонки.**

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 10000 гcf. Удалить фильтрат.

**Примечание:** не забудьте предварительно добавить к буферу WB1 этанол.

2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 10000 гcf. Удалить фильтрат.

**Примечание:** не забудьте предварительно добавить к буферу WB2 этанол.

3. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000 гcf для полного удаления буфера WB2.

#### **Элюция РНК**

1. Перенести колонку в новую микроцентрифужную пробирку (не входит в состав набора) на 1.5-2 мл.

2. Аккуратно нанести на центр фильтра колонки 60 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 1 мин при комнатной температуре (15-25 °C). Центрифугировать 1 мин, 10000 гcf.

**Примечание:** для увеличения выхода РНК повторно провести элюцию новой порцией элюата. Повторное нанесение элюата на колонку также позволяет увеличить выход РНК, но в меньшей степени, чем в первом варианте, однако получается более концентрированный раствор РНК. Третья и последующие элюции незначительно увеличивают выход РНК (менее 10%). При элюции объемом менее 60 мкл необходимо аккуратно наносить буфер на фильтр, иначе возможно снижение выхода РНК.

Буфер для элюции – вода, очищенная от РНКаз.

3. Элюат, содержащий РНК, хранить при -20 °C.

#### **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](http://www.biolabmix.ru)  
[sales@biolabmix.ru](mailto:sales@biolabmix.ru)