

Информация о продукте

Набор для выделения РНК на магнитных частицах

NAmagp100, NAmagp200, NAmagp2000

Ручной и автоматический способы выделения РНК

Важно!

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

Протокол обновлён 26.08.2022.

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 РНК как ручным способом с помощью магнитного штатива, так и автоматического 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 (NAmagp100, NAmagp200, NAmagp2000) от Набор для выделения РНК на магнитных частицах (MRP100, MRP200, MRP2000) заключается в том, что при использовании позиций NAmagp100, NAmagp200, NAmagp2000 необходимо добавить этанол к образцам после прохождения лизиса при ручном способе выделения либо в процессе пробоподготовки при автоматическом способе выделения. Также необходимо добавить этанол к буферу для промывки (WB).

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



Состав набора

| Кат. № | NAmagp100 | NAmagp200* | NAmagp2000 |
|---------------------------------------|-----------|------------|------------|
| Кол-во выделений | 100 | 200 | 2000 |
| Буфер для лизиса LB | 45 мл | 2x45 мл | 900 мл |
| Буфер для промывки WB (концентрат) | 22 мл | 2x22 мл | 420 мл |
| Буфер для элюции EB | 15 мл | 2x15 мл | 200 мл |
| Магнитные частицы (суспензия) | 1.2 мл | 2x1.2 мл | 24 мл |

* NAmagp200 – поставляется 2 набора NAmagp100.

** NAmagp2000 – тара, в которой поставляется набор, может отличаться для новых партий. Набор может поставляться в виде 20 наборов NAmagp100.

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.

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

Ручной способ

Магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок на 1.5-2 мл

Нагревательный блок, поддерживающий температуру до 50 °С

Микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл

Этанол, 96-99% раствор

Автоматический способ

Глубоколуночный планшет с V-образными лунками на 2 мл, 3-4 шт.

Наконечники для магнитных стержней или гребёнка, 1 шт.

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.
- При выделении РНК с использованием автоматической станции подготовить смесь буфера для лизиса (LB), этанола (96%) и магнитных частиц (M). Смешать буфер для лизиса (LB), этанол (96%), магнитные частицы. Подготовить необходимый объём данной смеси, исходя из количества проб.

Примечание: рекомендуется увеличить полученный объём на 10%.

1 проба. 300 мкл буфера для лизиса LB, 400 мкл этанола (96%), 10 мкл магнитных частиц, суммарный объём 710 мкл.

100 проб (+10%). 33 мл буфера для лизиса LB, 44 мл этанола (96%), 1.1 мл магнитных частиц, суммарный объём 78.1 мл.

- 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. Ручной способ.

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 при 65 °С.

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 5-10 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 5-15 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 5 мин при 65 °С.

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

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.

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 $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.



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, этанол и магнитные частицы. 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.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

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. 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: Программу можно загрузить на странице продукта (Каталог/Наборы и реагенты для выделения НК/Наборы для выделения РНК/ Набор для выделения РНК из мазка/соскоба эпителиальных клеток, вирусов на магнитных частицах) на сайте компании ООО «Биолабмикс» либо связаться с сотрудниками компании для уточнения информации. Контактные данные указаны на последней странице.

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.

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, этанол и магнитные частицы. 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.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

3. Планшет 3. Элюция РНК. Добавить в лунку планшета 100 мкл буфера для элюции EB.

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

4. Поместить гребёнку в планшет 1, содержащий буфер для лизиса LB и образец.

5. Запустить программу «VKmag_T_EtOH.bdз» на станции KingFisher Flex (ThermoScientific).

Примечание: Программу можно загрузить на странице продукта (Каталог/Наборы и реагенты для выделения НК/Наборы для выделения РНК/ Набор для выделения РНК из мазка/соскоба эпителиальных клеток, вирусов на магнитных частицах) на сайте компании ООО «Биолабмикс» либо связаться с сотрудниками компании для уточнения информации. Контактные данные указаны на последней странице.

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.

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