Инструкция по применению

Биолабмикс®

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
E-mail: sales@biolabmix.ru

Набор для выделения РНК на колонках

Кат. номер RUplus-50, RUplus-250

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом. Последняя версия протокола доступна на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru).
Набор предназначен только для научно-исследовательских целей.
Протокол обновлён 23.04.2026.

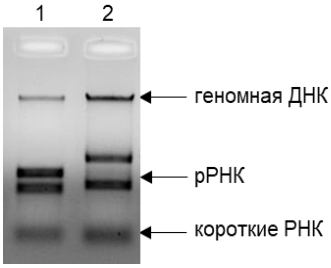
Описание

Набор предназначен для выделения и очистки РНК из следующих образцов:

1. Культуры эукариотических клеток;
2. Культуры клеток грамотрицательных и грамположительных бактерий;
3. Мазки или соскобы эпителиальных клеток;
4. Вирусы.

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. Ёмкость колонки до 100 мкг РНК. Выход РНК зависит от типа образца.

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



Дорожка 1 - РНК, выделенная из бактериальных клеток, 1 мг биомассы *E. Coli.*

Дорожка 2 - РНК, выделенная из клеток человека, $1*10^6$ клеток.

Состав набора

	RUplus-50 50 выделений	RUplus-250 250 выделений	
		Вариант 1	Вариант 2
Буфер для лизиса LB	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для сорбции BB	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для промывки WB1	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для промывки WB2 (концентрат)	6 мл	3x10 мл	2x15 мл
Буфер для элюции EB	15 мл	60 мл	60 мл
Буфер для растворения лизоцима	2 мл	10 мл	10 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	50 шт	250 шт	250 шт

Набор RUplus-250 поставляется в одном из двух вариантов

Меры предосторожности

1. 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.
2. Буферы для сорбции BB и промывки WB1 содержат изопропанол, оказывающий раздражающее и токсичное действие. Не проводить работы с раствором в непосредственной близости от открытого огня.
3. При попадании на кожу промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
4. При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые перчатки, так как исследуемый материал является потенциально инфицированным, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции. Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

Эксплуатация

Компоненты LB, BB, WB1, WB2, EB, буфер для растворения лизоцима стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и достаточной герметизации флаконов.

Условия работы

Температура окружающей среды от +15 до +25 °C;
Относительная влажность воздуха не более 80 %;
Атмосферное давление 630 – 800 мм рт. ст.

Оборудование и материалы, не входящие в набор

- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 rcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл;
- Этанол, 96-100% раствор;
- **Опционально:**
  2-меркаптоэтанол, 14.3 М раствор (коммерчески доступный раствор обычно имеет концентрацию 14.3 М) или альтернативный вариант – водный раствор 2 М дитиотриэтола (DTT);
- **Опционально:**
  Лизоцим, при выделении РНК из грамположительных бактерий;
- **Опционально:**
  polyA РНК, при выделении РНК из малых количеств исходного образца (конечный выход РНК 1.0-1.5 мкг и менее).

Перед началом работы

Подготовка буфера LB (опционально).

- **Вариант 1.**
  Добавить 10 мкл 2-меркаптоэтанола (2-ME) к 1 мл буфера LB. Буфер LB с 2-меркаптоэтанолом может храниться при 15-25 °C 1 месяц.
- **Вариант 2.**
  Добавить 20 мкл 2 М раствора дитиотриэтола (DTT) к 1 мл буфера LB. Буфер LB с дитиотриэтолом (DTT) может храниться при 15-25 °C 1 месяц. Использовать либо свежеприготовленный раствор 2 М DTT, либо однократно замороженные аликвоты.
  Примечание: Отсутствие в буфере 2-ME или DTT, как правило, не снижает качество РНК в большинстве образцов культуральных клеток.

Подготовка буфера WB2.

- **1 выделение, 500 мкл WB2**.К 100 мкл буфера WB2 (концентрат) добавить 400 мкл этанола (96-100%).
- **50 выделений**. К 6 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 24 мл этанола (96-100%), чтобы получить 30 мл буфера WB2.

- **250 выделений. Вариант 1**. К 10 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 40 мл этанола (96-100%), чтобы получить 50 мл буфера WB2.
- **250 выделений. Вариант 2**. К 15 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 60 мл этанола (96-100%), чтобы получить 75 мл буфера WB2.

После добавления этанола плотно закрывать крышку. Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB2, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Раствор лизоцима 50 мг/мл (опционально).

При выделении РНК из грамположительных бактерий, приготовить раствор лизоцима с концентрацией 50 мг/мл в буфере для растворения лизоцима (входит в состав набора): 50 мМ Tris-HCl (pH 8), 10 мМ EDTA (pH 8), 50% глицерин. Лизоцим не входит в состав набора.

Для растворения лизоцима навеску фермента в буфере тщательно перемешать на вортексе. Инкубировать 30 мин при Ткомн (15-25°С), периодически перемешивая до полного растворения лизоцима. Раствор лизоцима хранить в буфере для растворения лизоцима не более 6 месяцев при -20°С.

Раствор polyA РНК 5 мг/мл (опционально).

Если ожидаемый выход РНК менее 1-2 мкг (например, 1 мкг РНК выделяется $1*10^5$ культуральных клеток человека), рекомендуется подготовить водный раствор polyA РНК (5 мг/мл). polyA РНК не входит в состав набора, реагент присутствует в каталоге ООО «Биолабмикс» (Кат. № polyA-500).
Раствор polyA рекомендуется хранить при -20 °С. Перед заморозкой раствор расфасовать на аликвоты. Каждую аликвоту размораживать не более 2-4 раз.

Протокол выделения РНК.

1) Подготовка и лизис образцов

Осадок культур эукариотических и бактериальных клеток

1. Осадок клеток ресуспендировать в 50 мкл PBS.

Примечание: не использовать более $3*10^6$ клеток млекопитающих или лимфоцитов и более $1*10^8$ клеток бактерий.

Примечание: при выделении РНК из грамположительных бактерий добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в буфере для растворения лизоцима. Инкубировать 10 мин при Ткомн (15-25°С).

2. Чистым одноразовым наконечником добавить 350 мкл буфера для лизиса LB.

Опционально: если ожидаемый выход РНК менее 1-2 мкг, то при выделении РНК из малых количеств образца ($1*10^5$ и менее культуральных эукариотических клеток или эквивалентное количество других образцов) добавить 5 мкл (5 мг/мл) polyA (кат. № polyA-500). Использование polyA позволяет повысить выход РНК.

3. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
4. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при 15-25 ^{0}С.

Мазки или соскобы эпителиальных клеток

1. Перенести аликвоту объёмом 100 мкл физраствора или транспортной среды после инкубации ватной палочки с соскобом или мазком эпителиальных клеток в чистую микропробирку на 1.5-2 мл
2. Чистым одноразовым наконечником добавить 300 мкл буфера для лизиса LB.
3. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
4. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при 15-25^{0}С.

2) Нанесение на колонку.

1. Лизат центрифугировать 10 мин, 10000 rcf. Супернатант аккуратно перенести в чистую микропробирку на 1.5-2 мл (не входит в состав набора).
2. К супернатанту добавить 400 мкл буфера для сорбции BB. Перемешать пипетированием перед нанесением на колонку.
3. Перенести не более 800 мкл образца на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
4. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.

Примечание: если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование увеличив время и/или скорость центрифугирования, не добавляя новую порцию образца или буфера LB.

Примечание: если объём лизата больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

3) Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.
2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB2 этанол.

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

4) Элюция РНК

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл (не входит в состав набора). Плотно прижать колонку к пробирке.
2. Нанести на центр фильтра колонки от 60 до 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 1 мин при комнатной температуре (15-25 °C). Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf.
   - **Важно!** Рекомендуемый объём элюции 100 мкл. При элюции меньшим объёмом требуется аккуратно наносить аликвоту буфера на центр фильтра колонки, иначе возможно снижение выхода РНК.
   - При элюции РНК в 100-200 мкл выход РНК выше на 10-30%, чем при элюции в 60 мкл.
   - Повторная элюция новой аликвотой буфера для элюции EB или элюатом позволяет увеличить выход РНК на 10-30%. При элюции объёмом менее 100 мкл рекомендуется использовать новую аликвоту буфера для элюции. При элюции объёмом 100 мкл и более допускается повторно нанести элюат на колонку.
   - Буфер для элюции – вода, очищенная от РНКаз.
3. Элюат, содержащий РНК, хранить при -20 °C.

Опционально. Провести обработку выделенной РНК ДНКазой.

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 λ = 260 нм.
Посчитать концентрацию РНК (нг/мкл) можно по следующей формуле:
A_{260} * разбавление * 40 нг/мкл.
Характерные соотношения оптической плотности A_{260}/A_{280} ~1.7-2.2.
Примечание: при концентрации РНК менее 10-20 нг/мкл рекомендуется провести оценку количества РНК флуориметрией или ПЦР.

- При анализе раствора РНК с помощью УФ-спектрометрии обязательно снимать фон с помощью буфера для элюции ЕВ.
- После снятия фона обязательно провести измерение буфера для элюции ЕВ. Убедиться, что оптическое поглощение около нуля во всём диапазоне измерения. Допускается максимальное оптическое поглощение не более 0.05.

Дополнительные реагенты:

- Раствор полиА, 5 мг/мл (Кат. № polyA-500).
- ДНКаза I, 1 ед/мкл (Кат. № EDI-100, EDI-1000).
- Буферы для электрофореза в агарозном геле: трис-ацетатный буфер (Кат. № BE-DNA-500, BE-DNA-1000), трис-боратный буфер (Кат. № TBE-500).
- Раствор бромистого этидия (Кат. № EtBr-10) для визуализации НК.
- Буферы для внесения образцов ДНК и РНК в гель (Кат. № D-3001, D-3002, D-3003).

Условия хранения:

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

Условия транспортировки:

Транспортировку набора производить при комнатной температуре (15-25 °С).

Продукция компании Биолабмикс

- Наборы для выделения ДНК/РНК
- Наборы и смеси для ПЦР
- ОТ и ОТ-ПЦР
- Изотермическая амплификация
- ДНК-маркеры
- Ферменты
- Олиго-нуклеотиды
- Платформа для синтеза мРНК
- Маркеры молекулярной массы белков
- Host cell DNA detection
- Контрактное производство
- Собственные разработки

sales@biolabmix.ru
8 800 600 88 76
www.biolabmix.ru

ISO 9001:2015
13485:2016

ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ НА НАШУ ГРУППУ ВК
vk.com/biolabmix

ЗАХОДИТЕ НА НАШ ТЕЛЕГРАМ КАНАЛ
t.me/biolabmix