



**Набор реагентов для выделения РНК методом
сорбции на спин-колонках
«RNA Pro Q»**

#RNAproQ_test #RNAproQ-50

Набор реагентов предназначен для выделения РНК из животных и растительных тканей, культуры клеток млекопитающих, бактерий, дрожжей. В набор включены все необходимые реагенты для выделения РНК:

1. 3-реагент – водный раствор фенола и гуанидин изотиоцианата для быстрого лизиса клеток;
2. Осаждающий буфер – для разделения образца на три фазы: водную, интерфазу и органическую, при этом РНК, ДНК и белки оказываются в разных фазах;
3. Связывающий буфер – для повышения сорбции РНК на фильтре колонки;
4. Промывочный буфер – для промывки РНК от клеточных метаболитов и солей;
5. Элюирующий буфер – для элюции и хранения РНК;
6. Спин-колонки – для фильтрации реакционной смеси и сорбции РНК.

Буферы набора «RNA Pro Q» могут храниться при температуре от +4 до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. В случае наличия осадка при минимальных температурах хранения, растворы следует нагреть до комнатной температуры.

Необходимые материалы и оборудование: микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл; штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл; автоматические дозаторы переменного объема на 20-200 мкл, 100-1000 мкл и соответствующие одноразовые наконечники; спин-колонки с собирательными пробирками (идут в комплекте); вортекс; скоростная центрифуга для пробирок объемом 1,5-2 мл до 13 тыс. об/мин с возможностью поддержания температуры +4°C.

RNA Pro Q

Проведение процедуры выделения РНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить 10-100 мг образца и добавить 600 мкл 3-реагента. При использовании жидких образцов объем 3-реагента должен превышать объем образца в 10 раз (60 мкл образца – 600 мкл 3-реагента).
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе. Инкубировать при комнатной температуре в течение 10 минут, периодически встряхивая. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Центрифугировать пробирки при +4°C в течение 10 минут при 13 тыс. об/мин.
4. Аккуратно, не задевая осадок, перенести супернатант в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.

Экстракция и сорбция РНК

1. Добавить в пробирки 100 мкл осаждающего буфера, интенсивно перемешивать пробирки на вортексе в течение 15-30 сек.
2. Центрифугировать пробирки при +4°C в течение 10 минут при 13 тыс. об/мин.
3. Аккуратно, не задевая интерфазу, перенести 250 мкл верхней водной фазы в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.
4. Добавить 250 мкл связывающего буфера и перемешать пробирки с помощью многократного переворачивания.
5. Перенести весь объем смеси в спин-колонку.
6. Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при 10-13 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собираемых пробирок.

Промывка РНК

1. Добавить в пробирки 700 мкл промывочного буфера.
2. Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при 10-13 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собираемых пробирок.
3. Повторить пункты 1, 2.
4. Вернуть колонки в собираемые пробирки. Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при макс. об/мин.

Элюция РНК

1. Перенести спин-колонки в новые пробирки объемом 1,5-2 мл. Собираемые пробирки утилизировать.
2. Добавить на центр мембраны спин-колонок 30-100 мкл элюирующего буфера. Инкубировать при комнатной температуре в течение 3-5 минут.

Рекомендация: для предотвращения деградации РНК внести ингибитор РНКаз.

3. Центрифугировать пробирки при +4°C в течение 1 минуты при 13 тыс. об/мин.
4. Утилизировать спин-колонки.

Полученные растворы РНК готовы к применению, все дальнейшие манипуляции следует проводить при +4°C. По соотношению показателей поглощения A260/A280 чистота полученного раствора РНК соответствуют $\geq 1,9$.

Перед хранением рекомендуется разделить растворы РНК на аликвоты, которые необходимо хранить при температуре -20°C и ниже не более 1 года. Для предотвращения деградации РНК рекомендуется добавлять ингибитор РНКаз и/или хранить образцы при температуре -72°C.