

# CleanRNA Standard

Набор для очистки и концентрирования препаратов суммарной РНК

Номер по каталогу:

BC033S — на 25 реакций

BC033M — на 100 реакций

Инструкция по применению

## Оглавление

1. Назначение .....	3
2. Состав .....	3
3. Условия хранения и транспортировки .....	3
4. Метод .....	3
5. Основные характеристики .....	4
6. Меры предосторожности .....	4
7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы .....	4
8. Биологический материал .....	4
9. Протокол .....	5

## 1. Назначение

Набор CleanRNA Standard предназначен для очистки препаратов суммарной РНК, полученных после выделения реагентом ExtractRNA (кат. # BC032, Евроген) или его аналогами (TRIzol, TRI Reagent), из реакционных смесей, а также для концентрирования РНК.

Набор CleanRNA Standard позволяет очистить образец от низкомолекулярной фракции РНК (размером менее 250 нуклеотидов), в том числе от транспортной РНК. Очищенная РНК может содержать примеси геномной ДНК, если предварительно не проводилась обработка ДНКазой.

Очищенная РНК подходит для синтеза кДНК и анализа экспрессии генов методом ОТ-ПЦР, пробоподготовки для NGS, Нозерн-блота, трансляции *in vitro* и других молекулярно-биологических приложений.

**Только для использования в научно-исследовательских целях.**

## 2. Состав

Компоненты набора	BC032S 25 реакций	BC032M 100 реакций
Спин-колонки SC с крышками	25 шт.	100 шт. (4 x 25 шт.)
Собираательные пробирки	100 шт. (2 x 50 шт.)	400 шт. (8 x 50 шт.)
Пробирки микроцентрифужные на 1.5 мл	25 шт.	100 шт. (4 x 25 шт.)
Связывающий раствор для РНК	13 мл	40 мл
Промывочный раствор для РНК (концентрат)	10 мл	40 мл (2 x 20 мл)
Деионизированная вода без РНКаз	4.5 мл (3 x 1.5 мл)	15 мл (10 x 1.5 мл)

## 3. Условия хранения и транспортировки

**Хранение и транспортировка:** при комнатной температуре.

**Срок годности:** 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

## 4. Метод

Связывание РНК на мембране колонки происходит в присутствии высококонцентрированных хаотропных веществ в условиях оптимально выбранного pH. Последующее использование промывочного буфера позволяет избавиться от нуклеотидов, коротких вариантов РНК, солей, белков, ингибиторов ферментативных реакций и примесей органических соединений. Элюция РНК происходит водой.

## 5. Основные характеристики

Характеристика	Значение
Емкость	До 100 мкг РНК
Размер РНК	Более 250 нуклеотидов
Выход РНК	До 90%
Объем элюции	15–50 мкл
Чистота*	$A260/A280 \geq 2.0$ , $A260/A230 \geq 2.0$

\* Для сильно загрязненных образцов соотношение  $A260/A230$  может не достичь значения 2, соотношение  $A260/A230$  зависит от природы загрязнений и источника РНК.

## 6. Меры предосторожности

«Связывающий раствор для РНК» содержит вещества, требующие обеспечения специальных мер безопасности:

- хранить в плотно закрытой таре;
- не допускать проглатывания, попадания на слизистые и кожу;
- при попадании компонентов набора на кожу или слизистые оболочки места контакта следует промыть большим количеством воды;
- при работе необходимо использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами.

## 7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением до 8 000 g.
- Вортекс.
- Автоматические дозаторы на 20, 200 и 1 000 мкл.
- Микроцентрифужные пробирки объемом 1.5 мл.
- Наконечники для дозаторов с фильтрами.
- Этанол 96%.

## 8. Биологический материал

- Суммарная РНК, полученная после выделения реагентом ExtractRNA (кат. # BC032, Евроген) или его аналогами (TRIzol, TRI Reagent).
- РНК в воде, буферном растворе или ферментативной реакционной смеси.
- Количество биоматериала: от 100 нг до 100 мкг суммарной РНК.

## 9. Протокол

Общее время работы: от 10 минут.

### 9.1. Подготовка растворов

1.1. Добавьте этиловый спирт (96%) во флакон с «Промывочным раствором для РНК (концентрат)» в количестве:

BC033S — 40 мл,

BC033M — 80 мл в каждый флакон.

Тщательно перемешайте раствор переворачиванием, нанесите пометку о выполнении операции на крышку флакона.

- ▶ При редком использовании набора не рекомендуется добавлять этанол в весь объем концентрата «Промывочного раствора для РНК». Непосредственно перед использованием отберите аликвоту концентрата в чистый флакон (200 мкл на 1 образец) и добавьте в него этанол (800 мкл на 1 образец). Тщательно перемешайте раствор переворачиванием.
- ▶ Внимательно следите за количеством израсходованного концентрата «Промывочного раствора для РНК», например, делайте отметки на флаконе и в конце инструкции на странице «Для заметок». Если вам понадобится добавить этанол ко всему оставшемуся объему концентрата «Промывочного раствора для РНК», то необходимое количество этанола следует рассчитать по формуле:

$$VE = (VW_{исх} - VW_{расх}) \times \frac{VE_{исх}}{VW_{исх}} \text{ (мл)},$$

где  $VE$  — объем этанола, который нужно добавить,  $VW_{исх}$  — объем концентрата «Промывочного раствора для РНК», указанный на этикетке,  $VW_{расх}$  — израсходованное количество концентрата «Промывочного раствора для РНК»,  $VE_{исх}$  — объем этанола по инструкции, см. п.1.1.

1.2. Если в «Связывающем растворе для РНК» образовался осадок, прогрейте его при температуре от +37 до +50 °С до полного растворения осадка.

### 9.2. Подготовка биоматериала

Если очищенную РНК планируется анализировать методом ОТ-ПЦР, следует учитывать, что в образце РНК всегда есть примеси геномной ДНК. Для удаления примеси ДНК необходимо провести обработку образца ДНКазой без РНКазной активности до очистки образца с помощью набора CleanRNA Standard.

**ВНИМАНИЕ!** Не используйте набор CleanRNA Standard для очистки РНК, обработанной ДНКазой E (кат. ## EK007S/M, Евроген).

### 9.3. Очистка РНК

**ВНИМАНИЕ!** Проводить работу на отдельном чистом рабочем месте. Во время работы использовать пластик, свободный от РНКаз. Очистку РНК следует разнести в пространстве с любыми процедурами, где применяются РНКазы (например, выделение плазмидной ДНК).

Не использовать раствор DEPC (диэтилпирокарбонат) для обработки воды, посуды или пластика. Следы DEPC могут ингибировать ферментативные реакции с РНК.

Все центрифугирования проводятся при 8 000 g (10 000 об/мин для настольной центрифуги Eppendorf Minispin) при комнатной температуре.

3.1. Доведите объем образца РНК до 100 мкл «Деионизированной водой без РНКаз».

3.2. Добавьте 350 мкл «Связывающего раствора для РНК», закройте пробирку и тщательно перемешайте смесь на вортексе.

3.3. Добавьте 250 мкл 96% этанола, закройте пробирку и перемешайте смесь переворачиванием пробирки.

3.4. Перенесите реакционную смесь с РНК в колонку и центрифугируйте в течение 30 секунд.

3.5. Собирательную пробирку с фильтратом утилизируйте. Переместите колонку в новую собирательную пробирку.

3.6. Добавьте 500 мкл «Промывочного раствора для РНК» и центрифугируйте в течение 30 секунд.

3.7. Повторите п.п. 3.5–3.6.

3.8. Собирательную пробирку с фильтратом утилизируйте. Переместите колонку в новую собирательную пробирку.

3.9. Центрифугируйте колонку в новой собирательной пробирке в течение 5 минут для полного удаления промывочного раствора и осушения фильтра колонки.

3.10. Собирательную пробирку с фильтратом утилизируйте. Переместите колонку в новую микроцентрифужную пробирку объемом 1.5 мл.

3.11. Нанесите в центр мембраны 30 мкл «Деионизированной воды без РНКаз».

▶ Для повышения выхода РНК можно увеличить объем элюции до 50 мкл.

▶ Для получения высокоцентрированного образца РНК следует наоборот уменьшить объем элюции до 15 мкл. Уменьшение объема элюции до 15 мкл приводит к снижению выхода РНК до 30%.

3.12. Центрифугируйте в течение 30 секунд. Элюат содержит очищенную РНК.

**ВНИМАНИЕ!** Все последующие манипуляции с РНК следует проводить на льду.

Избегайте избыточных циклов замораживания-размораживания. Перед длительным хранением РНК рекомендуется распределить на аликвоты и заморозить. Очищенная РНК хранится при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 1 года.

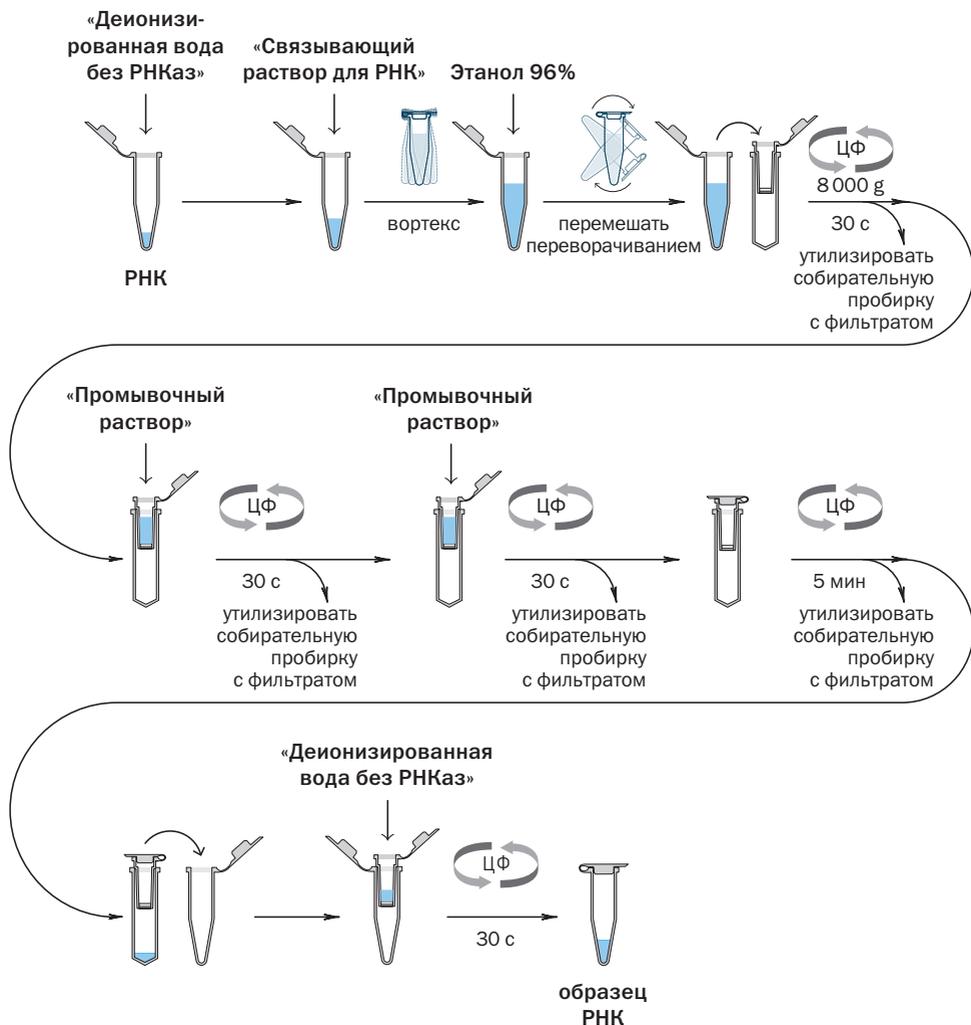


Рисунок 1 – схема очистки РНК.

## Наборы и сервисы Евроген

**Н** >>> – ссылка на страницу НАБОРА

Выделение и очистка нуклеиновых кислот **Н** >>>

**С** >>> – ссылка на страницу СЕРВИСА

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **Н** >>>

Синтез и амплификация кДНК **Н** >>> **С** >>>

Клонирование ДНК **Н** >>> **С** >>>

Выявление контаминации микоплазмой **Н** >>>

Оценка ДНК **Н** >>>

Нормализация кДНК **Н** >>> **С** >>>

Практикум по геной инженерии **Н** >>>

Генотипирование **Н** >>>

Синтез олигонуклеотидов и зондов **С** >>>

Секвенирование по Сэнгеру **С** >>>

Синтез генов **С** >>>

Сайт-направленный мутагенез **С** >>>

Консультация по продуктам: [support@evrogen.ru](mailto:support@evrogen.ru)

Подробную информацию о наших наборах и сервисах можно получить на сайте [www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)

ЗАО Евроген  
Москва 117997  
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15  
Тел.: +7 (495) 784-7084  
[order@evrogen.ru](mailto:order@evrogen.ru)  
[www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)