

Фиксатор IntactRNA для стабилизации РНК в биологических образцах

Продукт	Кат. #	Объем	Кол-во процедур
Фиксатор IntactRNA	BC031	100 мл	100 фиксаций по 100 мг ткани или клеточного осадка

Хранение и транспортировка: при комнатной температуре.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год.

IntactRNA – нетоксичный водный фиксатор, предназначенный для быстрой стабилизации РНК в образцах ткани и клеток. Зафиксированные образцы могут храниться до 7 дней при комнатной температуре и до 30 дней при +4°C без заметной потери качества РНК, что позволяет использовать IntactRNA для сбора материала в экспедициях, транспортировки незамороженных образцов, обработки большого количества проб. Фиксация с помощью IntactRNA также рекомендуется для хранения замороженных образцов, поскольку препятствует деградации РНК в процессе размораживания. Суммарный препарат РНК, выделенный из зафиксированных фрагментов ткани, может затем быть использован в любых молекулярно-биологических приложениях.

Основные свойства IntactRNA:

- Обеспечивает быструю инактивацию РНКаз;
- Позволяет использовать гибкий режим хранения проб;
- Совместим с большинством методик для выделения РНК;
- Не нарушает целостность клеток в образце.

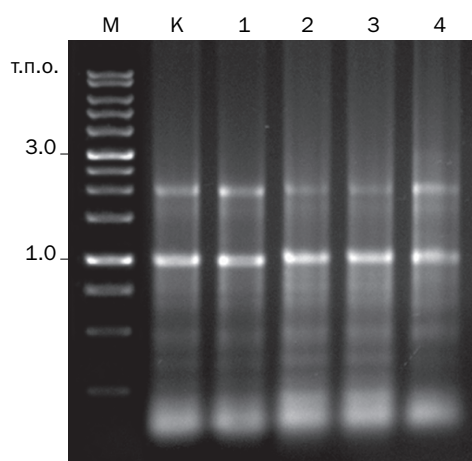


Рис. 1. Визуализация с помощью электрофореза в 1.2% ТАЕ агарозе РНК, выделенной из печени мыши, хранившейся при различных условиях.

М – Маркер длин ДНК 1 kb DNA Ladder (Евроген, кат. #NL001), К – Контроль: РНК, выделенная из свежего образца ткани (без фиксации).

Дорожки с 1 по 4 – РНК из ткани, хранившейся в фиксаторе IntactRNA:

- 1 – 1 день при комнатной температуре;
- 2 – 7 дней при комнатной температуре;
- 3 – 14 дней при комнатной температуре;
- 4 – 1 месяц при +4°C .

Протокол фиксации

► *Перед началом работы ознакомьтесь с разделом «Рекомендации по фиксации тканей и клеток».*

1. Поместите фрагменты ткани или клеточный осадок в стерильную пробирку.
2. Сразу залейте образец 8-10 объемами фиксатора. При фиксации фрагментов ткани убедитесь, что образец полностью погружен в раствор.
3. По возможности поместите образец в холодильник +4°C на 24 часа.
► *При отсутствии холодильника пробы следует поместить в самое прохладное место, а также беречь от воздействия солнечных лучей.*
4. Образец подготовлен для хранения (см. раздел "Хранение фиксированных образцов").

Рекомендации по фиксации тканей и клеток

Используйте IntactRNA только для фиксации свежих биологических образцов, не подвергайте образцы замораживанию перед погружением в фиксатор. Постарайтесь выполнить процедуру фиксации максимально быстро, от скорости выполнения будет зависеть качество РНК.

1. Общие рекомендации по работе с тканями животных и растений

Ткани должны быть разрезаны на фрагменты толщиной не более 0.3-0.5 см. Более толстые образцы пропитываются фиксатором слишком медленно, поэтому внутри образца РНК может деградировать.

Мелкие органы или небольшие целые организмы (планктон, икра и т.п.) могут быть зафиксированы целиком.

2. Растительные ткани

При работе с растительными тканями и семенами объем фиксатора можно уменьшить до 5 объемов образца. Если ткани имеют защитные барьеры, препятствующие проникновению водных растворов (восковой налет на листьях и т.п.), их следует аккуратно удалить или нарушить, чтобы фиксатор свободно проникал вглубь образца.

3. Клеточные и бактериальные культуры

Перед добавлением фиксатора необходимо собрать клеточный осадок центрифугированием при 4000-5000 g.

► *Не следует промывать клетки во избежание деградации РНК.*

4. Лейкоцитарная фракция крови

Лейкоциты хорошо сохраняются в фиксаторе, если перед фиксацией отделить их от эритроцитов и плазмы крови и обработать так же, как культуры клеток (см. п.3). Фиксатор не рекомендуется использовать для сохранения РНК в цельной крови, плазме или сыворотке, поскольку эти жидкости содержат высокую концентрацию белков. При добавлении к ним фиксатора образуются нерастворимые осадки, что существенно затрудняет последующее выделение РНК.

Хранение фиксированных образцов

1. Хранение в замороженном виде

Для архивного хранения пробы рекомендуется хранить при -70°C или -20°C . Перед замораживанием образцы следует инкубировать в фиксаторе при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов. Впоследствии пробы могут быть разморожены и заморожены повторно без снижения выхода и ухудшения качества РНК.

В замороженных образцах иногда образуются кристаллы, которые не влияют на качество выделяемой РНК.

2. Хранение в охлажденном состоянии

При $+4^{\circ}\text{C}$ РНК в пробах остается стабильной в течение 30 дней.

3. Хранение при температуре окружающей среды

После фиксации пробы могут находиться при комнатной температуре до 7 дней. Однако для лучшей сохранности РНК рекомендуется охладить пробирки как можно быстрее.

При хранении на комнатной температуре более 2 недель в выделенных препаратах заметна небольшая деградация РНК, однако такие образцы пригодны для RT-PCR анализа.

При 37°C образцы можно хранить без существенной потери качества РНК не более 24 часов. После 3 дней хранения в выделяемых препаратах наблюдается частичная деградация РНК. Такие образцы РНК могут быть использованы для исследований, в которых не требуется наличие полноразмерных молекул.

Выделение РНК из фиксированных образцов

Если пробы хранились в замороженном виде, разморозьте их при комнатной температуре (без активного подогрева).

Выньте образец ткани стерильным пинцетом, поместите в буфер для лизиса и быстро гомогенизируйте.

Если вы работаете с культурами клеток, осадите клетки центрифугированием при 4000-5000 g и удалите фиксатор. Ресуспенсируйте клетки в лизирующем растворе. Если плотности фиксатора и клеток близки (центрифугирование не приводит к образованию осадка), добавьте один объем холодного PBS, после чего сразу проведите повторное центрифугирование.

Для выделения РНК рекомендуется использовать реагент ExtractRNA, кат. #BC032.

Продукты компании Евроген

- Реактивы для синтеза кДНК
- Реактивы для ПЦР
- Готовые смеси для ПЦР
- Реактивы для нормализации кДНК
- Наборы реактивов для выделения ДНК
- Реактивы для хранения образцов и выделения РНК
- Продукты на основе флуоресцентных белков

Сервисы компании Евроген

- Синтез олигонуклеотидов
- Секвенирование
- Секвенирование следующего поколения (NGS)
- Нормализация кДНК
- Приготовление библиотек кДНК
- Синтез генов и направленный мутагенез
- Поиск и клонирование полноразмерных кДНК и регуляторных областей генов

Подробную информацию о наших продуктах и сервисах можно получить на сайте www.evrogen.ru

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, корпус 70
(Технопарк ИБХ)
Тел.: +7(495)988-4083
Факс: +7(495)988-4085
www.evrogen.ru