

# Фиксатор IntactRNA

Кат. # BC031

Версия 3 от 22 августа 2023 г.

IntactRNA — нетоксичный водный фиксатор, предназначенный для быстрой стабилизации РНК в образцах ткани и клеток. Предназначен для сбора материала в экспедициях, его транспортировки в незамороженном виде, а также для длительного хранения в замороженном виде.

РНК, выделенная из зафиксированных фрагментов ткани, может быть использована 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.**

## Состав

Кат. #	Компонент	Объем
BC031	Фиксатор IntactRNA	100 мл

## Условия хранения и транспортировки

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

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

## Количество реакций

Набор рассчитан на 100 образцов объемом 100 мкл или весом 100 мг.

## Основные характеристики

- Хранение образцов в IntactRNA возможно при +37 °С в течение 24 часов, при комнатной температуре — до 7 дней, при +4 °С — до 30 дней, при –70 °С или –20 °С — до 12 месяцев.
- Совместим с большинством методик для выделения РНК.

# Протокол

## 1. Подготовка биоматериала

### 1.1. Ткани животных и растений

1. Подготовьте фрагменты ткани толщиной 0,3–0,5 см и поместите их в пробирку объемом 1,5 мл.

- ▶ *Образцы толщиной более 0,5 см пропитываются фиксатором слишком медленно, что может привести к деградации РНК. Мелкие органы или небольшие целые организмы (планктон, икра и т.п.) могут быть зафиксированы целиком.*
- ▶ *Если ткани имеют защитные барьеры, препятствующие проникновению водных растворов (например, восковой налет на листьях), удалите или повредите их, чтобы фиксатор свободно проникал вглубь образца.*

2. Перейдите к п. 2 «Выполнение процедуры».

### 1.2. Культуры клеток (млекопитающих, растений, бактерий или дрожжей)

1. Отберите культуральную жидкость, содержащую нужное количество клеток, в пробирку объемом 1,5 мл.

2. Центрифугируйте при 4 000–5 000 г в течение 5 минут и отберите (слейте) супернатант, не задевая осадок.

- ▶ *Не следует промывать клетки во избежание деградации РНК.*

3. Перейдите к п. 2 «Выполнение процедуры».

### 1.3. Лейкоцитарная фракция крови

1. Для выделения лейкоцитов используйте свежую незамороженную кровь.

2. Центрифугируйте необходимый объем крови, слейте верхнюю фракцию (плазму) и отберите лейкоцитарную фракцию в пробирку объемом 1,5 мл.

- ▶ *Не рекомендуется использовать цельную кровь, плазму или сыворотку. При добавлении к ним фиксатора образуются нерастворимые осадки, что существенно затрудняет последующее выделение РНК.*

3. Перейдите к п. 2 «Выполнение процедуры».

## 2. Выполнение процедуры

2.1. Незамедлительно добавьте к образцу 8–10 объемов «IntactRNA». Убедитесь, что образец полностью погружен в раствор.

2.2. Гомогенизируйте образец на более мелкие фрагменты или ресуспендируйте клеточный осадок.

2.3. Перемешайте раствор 3–4-кратным переворачиванием пробирки.

- 2.4. Инкубируйте образец при комнатной температуре не менее 1 часа.
- 2.5. Инкубируйте образец при +4 °С в течение 24 часов. Образец подготовлен для хранения.

▶ При отсутствии холодильника пробы следует поместить в самое прохладное место, а также беречь от воздействия солнечных лучей. Однако для лучшей сохранности РНК рекомендуется охладить пробирки как можно быстрее.

### 3. Хранение фиксированных образцов

3.1. Длительность хранения фиксированных образцов зависит от температурного режима:

- при –70 °С до 12 месяцев;
- ▶ Допускается хранение при –20 °С и до 10 циклов размораживания-замораживания образца в фиксаторе без снижения выхода и ухудшения качества РНК.
- ▶ В замороженных образцах иногда образуются кристаллы, которые не влияют на качество РНК.
- при +4 °С в течение 30 дней. При увеличении срока хранения до 6 месяцев выделенная РНК может быть частично деградирована;
- при комнатной температуре в течение 7 дней. При увеличении срока хранения до 30 дней выделенная РНК может быть частично деградирована;
- при +37 °С в течение 24 часов образцы сохраняются без существенной потери качества РНК. Образцы, в которых началась деградация РНК могут быть использованы для исследований, в которых не требуется наличие полноразмерных молекул.

### 4. Выделение РНК из фиксированных образцов

4.1. Для выделения РНК рекомендуется использовать реагент ExtractRNA (кат. # BC032, Евроген) или набор RNA Solo (кат. ## BC034Т/М, Евроген).

4.2. Разморозьте образцы при комнатной температуре (не используйте термостат), если они хранились в замороженном виде.

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

Если вы работаете с культурами клеток, осадите клетки центрифугированием при 4 000–5 000 g и удалите фиксатор. Ресуспендируйте 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.

## 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)