

# Набор CleanRNA Standard

Кат. # BC033

Версия 03 от 10 сентября 2020 г.

Набор предназначен для дополнительной очистки препаратов суммарной РНК, полученных после выделения реагентом **ExtractRNA** (Евроген, кат. #BC032) или его аналогами (TRIzol, TRI Reagent), а также для концентрирования препаратов РНК и очистки РНК из реакционных смесей после ферментативных реакций (транскрипция, обработка ДНКазой).

## Состав набора

Компоненты набора	Кол-во
Спин-колонки с крышками без РНКаз	25 штук
Собирающие пробирки на 2 мл без РНКаз	100 штук
Микроцентрифужные пробирки на 1.5 мл без РНКаз	25 штук
Связывающий раствор для РНК	13 мл
Промывочный раствор для РНК (концентрат)	10 мл
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 7.5)	1.5 мл
Стерильная деионизованная вода без РНКаз	2 x 1.8 мл

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

**Срок хранения:** при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год со дня поставки.

«**Связывающий раствор**» обеспечивает условия, при которых происходит денатурация белков, в том числе РНКаз, а РНК избирательно связывается с носителем фильтра спин-колонки.

«**Промывочный раствор**» используется для эффективной отмывки солей, белков и низкомолекулярных фракций РНК.

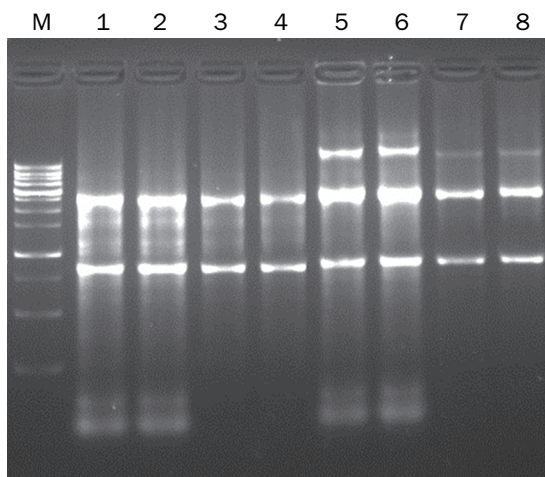
«**Элюирующий раствор**» (может быть заменен водой) осуществляет элюцию РНК, вследствие чего получается очищенный препарат суммарной РНК.

Использование набора CleanRNA Standard позволяет очистить препарат от низко-молекулярных фракций РНК (размером менее 200 нуклеотидов), в том числе от транспортной РНК. Очищенный препарат РНК может содержать примесь геномной ДНК, если предварительно **не проводилась** обработка ДНКазой.

На одной колонке может быть очищено от 100 нг до 100 мкг суммарной РНК.

## Основные свойства

- Емкость колонки: до 100 мкг РНК
- Размер РНК: более 200 нуклеотидов
- Общее время выделения: от 10 мин



Очистка на колонках препаратов суммарной РНК, выделенных реагентом ExtractRNA из клеток линии HeLa, до и после обработки ДНКазой I.

Дорожки:

- 1,2 — РНК обработанная ДНКазой I до очистки;
- 3,4 — РНК обработанная ДНКазой I после очистки;
- 5,6 — РНК без обработки ДНКазой I до очистки;
- 7,8 — РНК без обработки ДНКазой I после очистки.

### Области применения очищенной РНК

- Синтез кДНК, ОТ-ПЦР и ПЦР в режиме реального времени
- Трансляция *in vitro*
- Анализ на чипах
- Нозерн и Дот-блот

### Необходимые дополнительные материалы и оборудование

- Этиловый спирт (96%)
- Вортекс
- Настольная микроцентрифуга, обеспечивающая ускорение  $\geq 8000g$  ( $\geq 10\,000$  об./мин.)

### Перед началом работы

- Добавить 40 мл этилового спирта (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором для РНК». Рекомендуется сделать пометку на крышке флакона.
- Проводить работу с образцами РНК следует в ПЦР-боксе или на отдельном чистом рабочем месте. Во время работы необходимо использовать пластик и посуду, свободную от РНКаз. РНК защищена от воздействия РНКаз в «Связывающем растворе для РНК», но после растворения в «Элюирующем растворе» она может быть разрушена в случае загрязнения препарата РНКазами.
- Не использовать раствор ДЕПК (диэтилпирокарбонат) для обработки воды, посуды или пластика, т.к. это может привести к ингибированию последующих ферментативных реакций.

## Протокол очистки РНК

Все этапы очистки (включая центрифугирования) проводятся при комнатной температуре (20-25 °С). По возможности следует работать быстро.

**Центрифугирования проводят на скорости  $\geq 8000g$  ( $\geq 10\ 000$  об./мин.)**

1. Если в каком-то из компонентов набора есть осадок, прогрейте этот компонент при температуре от +37 до +50 °С до полного растворения осадка.
2. Довести объем образца РНК до 100 мкл стерильной деионизованной водой без РНКаз.
3. Добавить 350 мкл «Связывающего раствора для РНК», закрыть пробирку и тщательно перемешать смесь на вортексе.
4. Добавить 250 мкл 96% этилового спирта, закрыть пробирку и перемешать смесь переворачиванием пробирки.
5. Поместить спин-колонку в собирательную 2 мл пробирку. Перенести пробу в спин-колонку. Центрифугировать 30 секунд. Выбросить собирательную пробирку с фильтратом.
  - ▶ *Максимальный объем спин-колонки – 800 мкл, поэтому увеличивать объемы растворов не рекомендуется.*
6. Поместить спин-колонку в новую собирательную пробирку. Добавить в спин-колонку 500 мкл «Промывочного раствора для РНК» и центрифугировать 30 секунд. Выбросить собирательную пробирку с фильтратом.
7. Повторить пункт 5.
8. Центрифугировать спин-колонку в новой собирательной пробирке 5 минут, для полного удаления промывочного раствора и осушения фильтра колонки. Выбросить собирательную пробирку.
9. Поместить спин-колонку в новую микроцентрифужную пробирку на 1.5 мл.
10. Нанести в центр мембраны 15-30 мкл предварительно нагретой до 50 °С воды или «Элюирующего раствора» (при необходимости объем элюата можно увеличить). Центрифугировать 30 сек.

Очищенная суммарная РНК может быть сразу использована для дальнейшей работы. Все дальнейшие работы с препаратом следует вести на льду. Избегайте избыточных циклов замораживания-размораживания образца.

Перед длительным хранением препарат РНК рекомендуется распределить на аликвоты и заморозить. Замороженная РНК хранится при температуре -20 °С и ниже в течение 1 года.

При использовании РНК для любых ОТ-ПЦР анализов следует учитывать, что фракция РНК всегда содержит примесь геномной ДНК, которая может быть разрушена при обработке ДНКазой, свободной от РНКазной активности. **Обработку следует проводить до очистки РНК на колонках.**

## Продукты и услуги компании Евроген

**P** – продукты

**S** – услуги

### Молекулярная биология

Наборы для выделения и очистки нуклеиновых кислот **P**

Маркеры длин ДНК **P**

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **P**

Приготовление библиотек кДНК **P S**

Синтез кДНК и RACE **P S**

Клонирование ДНК **P S**

Нормализация кДНК **P S**

Практикум по генной инженерии **P**

Синтез олигонуклеотидов и зондов **S**

Секвенирование по Сэнгеру **S**

Секвенирование следующего поколения (NGS) **S**

Синтез генов **S**

Сайт-направленный мутагенез **S**

Техническая поддержка: [customer-support@evrogen.ru](mailto:customer-support@evrogen.ru)

### Клеточная биология

Выявление микоплазменной контаминации **P**

Флуоресцентные белки **P**

Генетически-кодируемые сенсоры и фотосенсибилизаторы **P**

Антитела против флуоресцентных белков **P**

Временная трансфекция клеточных линий **S**

Конструирование и сборка лентивирусных частиц **S**

Создание стабильно трансфицированных клеточных линий **S**

Техническая поддержка: [customer-support@evrogen.ru](mailto:customer-support@evrogen.ru)

### Молекулярно-генетические исследования

Исследования в области молекулярной онкологии

и генетики наследственных заболеваний **S**

Техническая поддержка: [oncology@evrogen.ru](mailto:oncology@evrogen.ru)

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

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, корпус 15

Тел.: +7 (495) 988-4083

Факс: +7 (495) 988-4085

[www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)

[order@evrogen.ru](mailto:order@evrogen.ru)