

## Фиксатор IntactRNA для стабилизации РНК в биологических образцах

Версия 2 от 16 сентября 2019 г.

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.

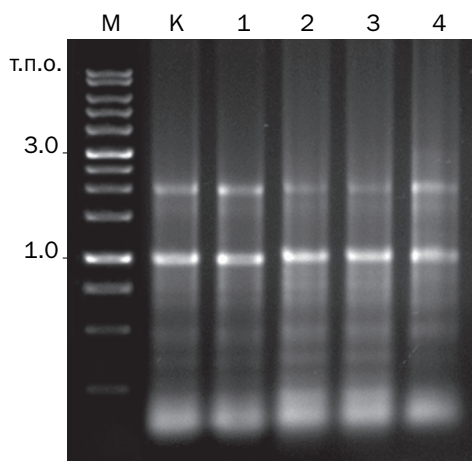
**Срок хранения:** при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год.

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 °С 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 (кат. # NL001, Евроген); 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 °С.

## 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. Перемешайте раствор 3–4-кратным переворачиванием пробирки. Важно, чтобы биологический образец как можно быстрее пропитался фиксатором. Оставьте образец при комнатной температуре не менее чем на 1 час.
- 4. По возможности поместите образец в холодильник +4 °С на 24 часа.
- ▶ *При отсутствии холодильника пробы следует поместить в самое прохладное место, а также беречь от воздействия солнечных лучей.*
- 5. 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 4 000 – 5 000 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  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  или при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Перед замораживанием образцы следует инкубировать в фиксаторе при  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$  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.

В случае хранения при комнатной температуре более 2 недель в выделенных препаратах заметна небольшая деградация РНК, однако такие образцы пригодны для RT-PCR анализа.

При  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $4\,000 - 5\,000\text{ g}$  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.

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

## 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)**

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10

Тел.: +7 (495) 988-4083

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

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