



Листівка-вкладка

Набір реагентів «Bioscore® РНК-преп» для виділення РНК з біологічного матеріалу (50 виділень).
Для *in vitro* діагностики.

Призначення

Набір реагентів «Bioscore® РНК-преп» призначений для виділення високоочищеної сумарної РНК з еукаріотичних та прокаріотичних клітин, рослинних та тваринних тканин, клінічного матеріалу протягом години.

Застосування: Набір реагентів застосовується у клінічних діагностичних лабораторіях, науково-дослідних лабораторіях, а також інших установах, які працюють в області *in vitro* діагностики.

Загальна інформація

Набір реагентів для виділення РНК «Bioscore® РНК-преп» поєднує в собі метод фенольно-хлороформної екстракції та спиртову преципітацію нуклеїнових кислот. Лізис зразку відбувається в суміші, що містить фенол та гуанідин тіоціонат. Отримана гомогенна суміш після додавання хлороформу розділяється на нижню органічну фазу, інтерфазу та верхню водну фазу. РНК, що міститься в водній фазі, висаджується шляхом додавання ізопропилового спирту.

Аналітичні характеристики

Отримана РНК може бути використана для проведення наступних досліджень: ПЛР у реальному часі, нозер-блот аналізу, дот-блот гібридизації, poly(A)+селекції, *in vitro* трансляції, методу захисту від РНКаз, молекулярному клонуванню.

Увага! Під час проведення процедури виділення РНК необхідно дотримуватись стандартних заходів безпеки, що попереджають забруднення навколишнього середовища, керуючись при цьому Державними санітарними нормами і правилами.

Склад

Набір реагентів «Bioscore® РНК-преп» розрахований на 50 виділень. До складу набору входять наступні компоненти:

TRIZol™ LS реагент	– 1 пляшка 40 мл;
Хлороформ	– 1 пляшка 10 мл;
Ізопропіловий спирт	– 1 пляшка 25 мл;
Вода вільна від РНКаз	– 2 пробірки по 1,25 мл.

Всі компоненти набору зберігаються при температурі від 4 до 25°C.

Необхідне оснащення та реагенти, що не входять до набору

Обладнання:	центрифуга на 12 тис. об./хв. з холодильником; набір автоматичних дозаторів; водяна баня або термоблок;
Розхідні матеріали:	поліпропіленові мікро-центрифужні пробірки на 1,5 мл;
Реагенти:	75% етанол.

Увага! Для використання Набору реагентів лабораторія має відповідати вимогам Державних санітарних норм і правил «Організація роботи

лабораторії при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I-IV груп патогенності молекулярно-генетичними методами», має бути оснащеною відповідним обладнанням та витратними матеріалами та мати акредитацію згідно ДСТУ EN ISO 15189:2015 «Медичні лабораторії. Вимоги до якості та компетентності лабораторій».

Етапи екстракції РНК:

Увага! Набір реагентів призначений для виділення РНК з рідких зразків (кров, змиви і т. ін.). Не використовувати набір реагентів для негомогенізованих твердих зразків, оскільки це може призвести до зниження виходу РНК.

Для покращення процедури виділення РНК з невеликих кількостей зразків (<10⁶ клітин або <10 мг тканини або для обсягу проби <0,25 мл) слід довести об'єм зразка до 0,25 мл за допомогою води вільної від РНКаз.

Лізис зразків

1. Відібрати необхідну кількість одноразових пробірок типу «Еппендорф», включно з негативним контролем виділення, та підписати;
2. Внести в пробірки по 0,25 мл зразків, в пробірку негативного контролю виділення внести 0,25 мл дН₂O;
3. Внести в пробірки TRIzol™ LS реагент із розрахунку 0,75 мл на кожні 0,25 мл зразку. Гомогенізувати зразки за допомогою вортекса або шляхом піпетування;
4. (За необхідності) У випадку високого вмісту жирів у зразках, центрифугувати лізат протягом 5 хв. при 12 тис. об./хв. при температурі 4-10°C. Освітлений супернатант перенести у нову пробірку;
5. Інкубувати зразки впродовж 5 хв. при кімнатній температурі;
6. Внести в пробірки хлороформ із розрахунку 0,2 мл на кожні 0,75 мл TRIzol™ LS реагенту та інкубувати впродовж 2-3 хв. при кімнатній температурі;
7. Центрифугувати зразки впродовж 15 хв. при 12 тис. об./хв. при температурі 4°C (розчин має поділитися на нижню фенольно-хлороформну фазу, інтерфазу і верхню водну фазу).
8. Відібрати верхню водну фазу, що містить РНК, та перенести у нову пробірку;

Осадження РНК

9. Внести в пробірки ізопропіловий спирт із розрахунку 0,5 мл на кожні 0,75 мл TRIzol™ LS реагенту, що використовувався для лізису;
10. Інкубувати зразки впродовж 10 хв. при кімнатній температурі;
11. Центрифугувати зразки впродовж 15 хв. при 12 тис. об./хв. при температурі 4°C (тотальна РНК осаджується у вигляді гелеподібного осаду на дно пробірки);
12. Видалити надосадову рідину;

Відмивка РНК

13. Внести в пробірки 75% етанол із розрахунку 1 мл на кожні 0,75 мл TRIzol™ LS реагенту, що використовувався для лізису;
14. Вортексувати зразки декілька сек., після чого центрифугувати впродовж 5 хв. при 7,5 тис. об./хв. при температурі 4°C;
15. Видалити надосадову рідину, а осад РНК підсушити при кімнатній температурі впродовж 5-10 хв.;

Листівка	Листівка-вкладка	Редакція №1	01.06.2020 Сторінка 2 з 2
----------	------------------	-------------	------------------------------

Розчинення РНК

16. Розчинити осад РНК в 20-50 мкл води вільної від РНКаз;

17. Інкубувати зразки РНК на водяній бані або термоблоці впродовж 10-15 хв. при температурі 55-60°C.

Після завершення процедури екстракції РНК необхідно перевірити її чистоту за допомогою спектрофотометру шляхом визначення співвідношення довжин хвиль $A_{260/280}$, яке має наближатися до 2,0.

***Увага!** Допускається зберігання очищених зразків РНК протягом 8 годин при температурі 0°C, до 1 тижня за температури $\leq -18^\circ\text{C}$ та для більш тривалого зберігання при температурі -70°C .*

Додаткова інформація

Термін придатності набору реагентів 12 місяців з дати виготовлення за умови належного зберігання всіх компонентів. Умови зберігання за температури від 4°C до 25°C.

Виробник гарантує придатність набору діагностичного протягом всього терміну придатності при дотриманні умов зберігання, транспортування та використання. У випадку, якщо набір реагентів не відповідає вимогам листівки-вкладки або виникли ускладнення з його використанням, слід негайно припинити використання даної серії та повідомити виробника.

З питаннями та побажаннями щодо роботи Набору реагентів «Biosoge® РНК-преп» звертатися за адресою:

ТОВ «БІОКОР ТЕКНОЛОДЖІ ЛТД»

Юридична адреса: вул. Петра Болбочана, 4-А, м. Київ, Україна, 01133

Адреса виробництва: Харківське шосе, 48, м. Київ, Україна, 02160;

тел.: +38 (044) 490-47-00, e-mail: info@biocor-tech.com, www.biocor-tech.com