

Instrukcja

StayRNA™

Bufor zabezpieczający RNA przed degradacją.

numer katalogowy	wielkość
038-100	100 ml
038-250	250 ml
038-500	500 ml

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Opis	3
Przygotowanie prób	4
Krew	4
Bakterie	4
Drożdże	4
Tkanka zwierzęca	4
Tkanka roślinna	5
Hodowle komórkowe	5
Przechowywanie prób	6
Przechowywanie w temp. -80 °C i -20 °C	6
zalecane w przypadku przechowywania długoterminowego	6
Przechowywanie w temp. od +2 °C do +8 °C	6
Przechowywanie w temp. pokojowej (25 °C)	6
Przechowywanie w temp. 37 °C	6
Izolacja RNA z prób przechowywanych w StayRNA™	6
Tkanki	7
Komórki	7
Usuwanie StayRNA™ przed izolacją RNA	7
Izolacja RNA z komórek zawieszonych w StayRNA™	7
Informacje Bezpieczeństwa	7

Opis

StayRNA™ jest roztworem wodnym, nietoksycznym, przeznaczonym do przechowywania świeżych próbek (nie mrożonych) przeznaczonych do izolacji RNA.

Roztwór przenika do świeżej próbki i zabezpiecza RNA in situ przed degradacją i działaniem RNAz.

Przechowywanie próbek w roztworze nie wpływa na jakość i ilość izolowanego RNA.

Dzięki StayRNA™ próbki do izolacji RNA nie muszą być od razu poddawane izolacji RNA lub zamrażane w ciekłym azocie do późniejszej izolacji.

W przypadku zauważenia osadu roztwór należy podgrzać do temp. 37 °C.

StayRNA™ zabezpiecza RNA w próbach:

- 1 dzień / 24 h w temp. 37 °C
- 1 tydzień w temp. 25 °C
- 1 miesiąc w temp. od +2 °C do +8 °C
- przy dłuższym przechowywaniu zalecamy stosowanie temperatury -20 °C lub -80 °C

UWAGA:

Powyższe dane są jedynie orientacyjne.

W doborze warunków przechowywania próbek przeznaczonych do izolacji RNA zawsze należy stosować temperatury najniższe z możliwych / osiągalnych oraz najkrótsze z możliwych okresy przechowywania w temp. powyżej -20 °C.

Preparat StayRNA™ został przetestowany na próbach pochodzących z różnego rodzaju materiału biologicznego, m.in.

- tkanki kręgowców w tym mózg, serce, nerki, śledziona, wątroba, jądra, mięśnie szkieletowe, tkanka tłuszczowa, płuca, grasicca
- hodowle bakteryjne *E. coli*
- *Drosophila*
- hodowle komórkowe
- krwinki białe
- niektóre tkanki roślinne

StayRNA™ jest kompatybilny z zestawami do izolacji RNA firmy A&A Biotechnology:

Total RNA Mini (nr kat. 031-25, 031-100)

Total RNA Midi (nr kat. 032-20)

Total RNA Maxi (nr kat. 033-10)

Total RNA Mini Plus (nr kat. 036-25, 036-100)

Total RNA Mini Plus Concentrator (nr kat. 036-25C, 036-100C)

Micro RNA (nr kat. 035-25)

Micro RNA Concentrator (nr kat. 035-25C)

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

- 10 mM bufor Tris, pH 8,5 nr kat. K-Tris-50

Przygotowanie prób

Krew

1. Krwinki białe należy oddzielić od krwinek czerwonych i osocza.
2. Krwinki białe zawiesić w 5 objętościach StayRNA™ ("objętość" jest definiowana jako objętość osadu).

StayRNA™ nie należy stosować do krwi pełnej, osocza lub surowicy ze względu na wysoką zawartość białka, które po zawieszeniu w buforze będzie strącać się w postaci nierozpuszczalnego osadu.

3. Przechowywać w żądanej temperaturze - informacje w dziale „Przechowywanie prób” - str. 6.

Bakterie

1. 1,5-3 ml hodowli bakteryjnej wirować przez 2 min w 12 000 x g.
2. Usunąć supernatant.
3. Delikatnie rozpuścić pelet w 0,5-1 ml StayRNA™.

StayRNA™ działa bakteriostatycznie, jednakże komórki pozostają nietknięte. Komórki E.coli przechowywane przez 1 miesiąc w temp. od +2 °C do +8 °C pozostają w stanie nienaruszonym.

Drożdże

1. Komórki w ilości 3×10^8 wirować przez 2 min w 12 000 x g.
2. Usunąć supernatant.
3. Delikatnie rozpuścić pelet w 0,5-1 ml StayRNA™.

Komórki drożdży mogą być przechowywane w buforze do 8 godzin w temp. 25 °C lub przez tydzień w temp. od +2 °C do +8 °C.

W przypadku dłuższego przechowywania należy inkubować komórki przez 1 godz. w buforze. Wirować przez 5 min w 12 000 x g. Usunąć supernatant i szybko zamrozić. Przechowywać w temp. od -20 °C.

Tkanka zwierzęca

1. 20-50 mg świeżej tkanki zwierzęcej pociąć na drobne kawałki.
2. Przenieść do naczynia o odpowiedniej objętości.

Małe narządy, jak np. szczurza wątroba, nerki, śledziona, mogą być przechowywane w całości.

3. Dodać 5 objętości StayRNA™ ("objętość" jest definiowana jako objętość tkanki,) np. do 100-200 µl próbki należy dodać 0,5-1 ml StayRNA™.
4. Przechowywać w żądanej temperaturze - informacje w dziale „Przechowywanie prób” - str. 6.

Tkanka roślinna

1. Świeżą tkankę roślinną pociąć na drobne kawałki <0,5 cm. Zaleca się rozdrobnienie przez rozcieranie lub homogenizację na lodzie.
2. Przenieść do probówki typu Eppendorf.

Tkanki roślinne, które są pokryte woskowymi nalotami lub mają inne bariery naturalne uniemożliwiające wnikanie roztworu do tkanki. Przed dodaniem StayRNA™ tkankę należy pozbawić tych naturalnych barier. Każda metoda, która narusza strukturę wosku jest odpowiednia.

3. Dodać 5 objętości StayRNA™.
4. Przechowywać w żądanej temperaturze - informacje w dziale „Przechowywanie prób” - str. 6.

Hodowle komórkowe

1. Komórki w ilości 1×10^6 wirować przez 2 min w 3 000 x g.
2. Usunąć supernatant, a osad zawiesić w 5 objętościach StayRNA™ ("objętość" jest definiowana jako objętość osadu) np. do 20-50 µl osadu należy dodać 250-500 µl StayRNA™.

W celu usunięcia resztek medium, przed dodaniem StayRNA™, osad można przepłukać lodowatym buforem Tris (10 mM bufor Tris, pH 8,5), zwirować w temp. +4 °C i usunąć supernatant.

3. Przechowywać w żądanej temperaturze - informacje w dziale „Przechowywanie prób” - str. 6.

Przechowywanie prób

Przechowywanie w temp. -80 °C i -20 °C zalecane w przypadku przechowywania długoterminowego

Nie zamrażać prób zawieszonych w StayRNA™ bez wcześniejszego ich przygotowania. W celu przygotowania próbek do przechowywania należy przeprowadzić nocną inkubację w temp. od +2 °C do +8 °C. Umożliwia to dokładne przeniknięcie roztworu do próby. Następnie usunąć pozostałe StayRNA™ przed przeniesieniem do temp. -80 °C lub -20 °C, aby zapobiec tworzeniu się kryształów soli. W komórkach hodowli tkankowej, nie należy usuwać StayRNA™. Zamrozić wraz z buforem.

Próby mogą być rozmrażane w temp. pokojowej i ponownie zamrażane zazwyczaj bez wpływu na ilość i jakość izolowanego RNA.

Przechowywanie w temp. od +2 °C do +8 °C

Próby mogą być przechowywane do 1 miesiąca zazwyczaj bez wpływu na ilość i jakość izolowanego RNA. Częściowa degradacja może wystąpić dla niektórych rodzajów próbek (zwłaszcza tkanek stałych).

Przechowywanie w temp. pokojowej (25 °C)

Próby mogą być przechowywane do 1 tygodnia zazwyczaj bez wpływu na ilość i jakość izolowanego RNA.

Częściowa degradacja może wystąpić dla niektórych rodzajów próbek (zwłaszcza tkanek stałych).

RNA izolowane z prób przechowywanych przez dwa tygodnie w temp. 25 °C jest w niewielkim stopniu zdegradowane (tj. minimalnie dopuszczalne w technice Northern Blot, ale wystarczająco dobre do analiz RT-PCR).

Jeżeli temperatura pokojowa jest powyżej 25 °C, należy próbkę zawieszoną w StayRNA™ inkubować na lodzie przez kilka godzin zanim zostanie pozostawiona w temperaturze pokojowej.

Przechowywanie w temp. 37 °C

Próby mogą być przechowywane do 24 godzin zazwyczaj bez wpływu na ilość i jakość izolowanego RNA.

Częściowa degradacja może wystąpić dla niektórych rodzajów próbek (zwłaszcza tkanek stałych).

Uwaga: niezależnie od rodzaju próbki, RNA ulega częściowej degradacji po 3 dniach inkubacji w temp. 37 °C.

Izolacja RNA z prób przechowywanych w StayRNA™

Próby przechowywane w StayRNA™ mogą stać się twardsze, co może powodować problemy z homogenizacją próby w porównaniu do świeżej. Zalecamy pocięcie próbek na mniejsze kawałki przed homogenizacją w buforze lizującym.

Tkanki

Za pomocą sterylnej pincety wyciągnąć tkankę zanurzoną w StayRNA™. Szybko osuszyć z nadmiaru buforu (np. papierowym ręcznikiem lub bibułą).

Następnie próbki umieścić w buforze lizującym z zestawu do izolacji RNA (fenzol lub fenzol plus). Tkanę homogenizować niezwłocznie po umieszczeniu jej w buforze lizującym.

Komórki

Do komórek zawieszonych w StayRNA™ należy dodać równą objętość lodowatego buforu Tris (10 mM bufor Tris, pH 8,5) w celu zmniejszenia gęstości roztworu i delikatnie wymieszać.

Całość wirować 3 min przy 5000 x g. Usunąć supernatant.

Osad ponownie zawiesić w 1 ml buforu Tris (10 mM bufor Tris, pH 8,5). Wirować 3 min przy 5000 x g. Usunąć supernatant.

Osad komórek zawiesić w buforze lizującym. Postępować zgodnie z protokołem izolacji RNA z zestawu.



A&A BIOTECHNOLOGY

innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 600 776 268, 883 323 761
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2023-2

