

Instrukcja

Total RNA Zol-Out™

Zestaw do szybkiej izolacji ultraczystego, całkowitego RNA z odczynników typu TRIzol®, TRI Reagent®, RNAzol®, QIAzol®, TriPure™, TriSure™, etc.

numer katalogowy	wielkość
030-25	25 izolacji
030-100	100 izolacji

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

Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
Ważne informacje	3
Przygotowanie materiału	4
Protokół izolacji	5
Doczyszczanie eluatu RNA (opcjonalnie)	6
Zastosowanie DNAzy (nr kat. 1009-10, 1009-100)	6
Zastosowanie zestawu Clean-Up RNA Concentrator (nr kat. 039-25C, 039-100C)	6
Informacje bezpieczeństwa	7

Skład

	25 izolacji	100 izolacji	przechowywanie
Minikolumny	25 szt.	100 szt.	15–25 °C
Probówki 2 ml	25 szt.	100 szt.	15–25 °C
A1 roztwór płuczący	50 ml	200 ml	15–25 °C
Izopropanol	10 ml	30 ml	15–25 °C
Woda ultraczysta	8 ml	30 ml	15–25 °C

Pojemność minikolumny do oczyszczania RNA wynosi 100 µg.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Jałowe, wolne od RNAzy probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- Mikrowirówka

Opcjonalne

- 96%-100 % etanol
- Chloroform
- BPC (1-bromo-3-chloropropan)
- DNAza (nr kat. 1009-10, 1009-100)
- Clean-Up RNA Concentrator (nr kat. 039-25C, 039-100C)
- Inkubator 37 °C, 75 °C

Ważne informacje

W przypadku pracy z RNA używać plastikowych materiałów zużywalnych wolnych od RNAz. Pracować sterylnie, używać jednorazowych rękawiczek i zmieniać je każdorazowo, kiedy wymaga tego dobra praktyka laboratoryjna.

Przygotowanie materiału

Dla próbki zawieszonej w: TRIzol®, TRI Reagent® i innych odczynnikach opartych na mieszaninie fenolu oraz rodanku guanidyny lub chlorowodoru guanidyny (RNAzol®, QIAzol®, TriPure™, TriSure™, itp.) **wybrać jedną z czterech metod (A, B, C lub D) przygotowania próbek do izolacji RNA.**

Do 1 objętości próbki dodać:

- A. **1/5 objętości chloroformu** (nie ma w zestawie) - proporcje 5:1, np. do 1 ml próbki dodać po 0,2 ml chloroformu. Przejść do pkt. 1. protokołu izolacji RNA.
- B. **1/10 objętości BCP** (nie ma w zestawie) - proporcje 10:1, np. do 1 ml próbki dodać po 0,1 ml BPC. Przejść do pkt. 1. protokołu izolacji RNA.
- C. **1 objętość 96%-100% etanolu** (nie ma w zestawie) - proporcje 1:1, np. do 1 ml próbki dodać po 1 ml etanolu. Przejść do pkt. 3. protokołu izolacji RNA.
- D. **1/3 objętości wody ultraczystej** (w zestawie) - proporcje 3:1, np. do 1 ml próbki dodać po 0,3 ml wody ultraczystej.

Wirować próbkę przez **15 min** przy **10 000-12 000 RPM**.

Pobrać supernatant do **nowej** próbówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).

Dodać po **1/2 objętości izopropanolu** (w zestawie) - proporcje 2:1, np. do 1 ml próbki dodać po 0,5 ml izopropanolu.

Przejść do pkt. 3. protokołu izolacji RNA.

Protokół izolacji

1. Z przygotowanego materiału pobrać **górne frakcje** zawierające RNA do probówek 1,5 ml (nie ma w zestawie).
2. Dodać po **1/2 objętości izopropanolu** - proporcje 2:1, np. do **600 µl** próbki dodać po **300 µl** izopropanolu.
3. Całość dokładnie wymieszać i nanieść po **700 µl mieszaniny** na minikolumnę.

Wirować przez **1 min** przy **10 000-12 000 RPM**.

Na minikolumnę można nanieść jednorazowo do 700 µl mieszaniny. W przypadku większej objętości mieszaniny niż 700 µl, po zwirowaniu pierwszej partii, należy nanieść na minikolumnę pozostałą część mieszaniny i ponownie wirować.
4. Przenieść minikolumnę do **nowej** probówki 2 ml (w zestawie).
5. Dodać po **700 µl** roztworu płuczającego **A1**.
6. Wirować przez **1 min** przy **10 000-12 000 RPM**.
7. Wyjąć minikolumnę z probówki, wylać przesącz i ponownie umieścić w niej minikolumnę.
8. Dodać po **700 µl** roztworu płuczającego **A1**.
9. Wirować przez **1 min** przy **10 000-12 000 RPM**.
10. Wyjąć minikolumnę z probówki, wylać przesącz i ponownie umieścić w niej minikolumnę.
11. Dodać po **200 µl** roztworu płuczającego **A1**.
12. Wirować przez **2 min** przy **10 000-12 000 RPM**.
13. Przenieść minikolumnę do **nowej** probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
Do złoża, znajdującego się na dnie minikolumny, dodać po **100 µl wody ultraczystej**.
14. Próbkę pozostawić na **3 min** w **temp. pokojowej**.
15. Wirować przez **1 min** przy **10 000-12 000 RPM**.

16. Minikolumnę usunąć, a oczyszczone RNA znajdujące się w probówce przechowywać w temp. -20 °C, -80 °C, do czasu dalszych analiz.

Doczyszczanie eluatu RNA (opcjonalnie)

Zestaw Total RNA Zol-Out efektywnie izoluje i oczyszcza RNA bez potrzeby jego dodatkowego doczyszczania.

W szczególnym przypadku, gdy konieczne jest usunięcie nawet śladowych ilości DNA zalecamy wybór jednej z metod:

Zastosowanie DNAzy (nr kat. 1009-10, 1009-100)

1. Do **100 µl eluatu RNA** dodać po:

 1 µl DNAzy (10 U/µl)
 10 µl 10x buforu reakcyjnego (w zestawie z DNAzą)
2. Inkubować próbkę przez **15 min** w temp. **37 °C**.
3. Inkubować próbkę przez **10 min** w temp. **65 °C** - inaktywacja DNAzy.

Zastosowanie zestawu Clean-Up RNA Concentrator (nr kat. 039-25C, 039-100C)

Zestaw oparty jest na mikrokolumnach i służy do usuwania śladowych ilości DNA.
Elucja RNA w ok. 30 µl wody ultraczystej.

Informacje bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

A1 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.

P261 Unikać wdychania par.

P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

Izopropanol

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.

P261 Unikać wdychania par.

P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

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

