



Инструкция по применению набора для выделения РНК из плазмы крови

На 50 выделений

Состав набора:

Микроколонки	50 шт
Раствор для сорбции 1	22 мл
Раствор для сорбции 2	83 мл
Раствор для промывки 1	30 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл
Раствор для элюции 1	8 мл
Раствор для элюции 2	0,75 мл

Примечание:

- **Раствор для сорбции 1** перед использованием необходимо прогреть в течение 5-10 минут при $t^0=55-56^0\text{C}$ до полного растворения солей. **Нельзя нагревать раствор более 65^0C .**
- В **Раствор для промывки 2** перед использованием необходимо добавить 35 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- Необходимо приготовить **Раствор для смачивания фильтра**, для этого смешать 1.1 мл дистиллированной (либо деионизованной) и проавтоклавируемой воды, 2.2 мл «Раствора для сорбции 1», 8,7 мл «Раствора для сорбции 2», 3 мл изопропанола.
- Если дополнительно не указано, то все этапы выделения выполняются при комнатной температуре.

1. К 100 - 200 мкл образца добавить два объема **Раствора для сорбции 1**, перемешать на Vortex;
2. Добавить 7.8 объема **Раствора для сорбции 2**. Перемешать (5-10 секунд) на Vortex.
3. Добавить 2.7 объема **изопропанола**. Перемешать (5-10 секунд) на Vortex.
4. Внести в колонку с фильтром 100 мкл **Раствора для смачивания фильтра** и, затем, выделяемый образец. Центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат.
Необходимо учитывать, что объем колонки составляет 650 мкл. Если объем выделяемого образца превышает 650 мкл, последовательно нанести на фильтр весь образец, каждый раз удаляя фильтрат из 2 мл пробирки-приемника.
5. Нанести на фильтр 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат.
6. Повторить п. 5.
7. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат.
8. Повторить п.7.
9. Центрифугировать пробирку с микроколонкой 30 секунд при 13000 об/мин для удаления остатков раствора.
10. Сменить пробирку для сбора фильтрата и добавить в нее 15 мкл **Раствора для элюции 2** (НЕ на фильтр, а в нижнюю пробирку). Затем вставить в нее колонку с фильтром, на котором сорбирована РНК.
11. Нанести на фильтр 150 мкл **Раствора для элюции 1**. *(Микроколонки должны располагаться ВЕРТИКАЛЬНО! Необходимо следить, чтобы капли вносимой воды попадали строго на центр фильтра).*
12. Инкубировать микроколонку 5 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин и 1 минуту при 13000 об/мин.
13. Убрать колонку с фильтром и перенести выделенный образец РНК в новую пробирку. Полученный раствор содержит очищенную РНК.

Полученные образцы готовы к постановке ОТ-ПЦР и прочих реакций. Образцы могут быть использованы либо немедленно, либо в течение года после переосаждения РНК этанолом и хранении при -20^0C .

Сроки годности и особенности хранения:

- Все растворы хранить при $+4+8^0\text{C}$;
- Пробирки и микроколонки хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора - 12 месяцев с даты изготовления.