



Инструкция по применению набора для выделения
РНК из культур клеток

На 100 выделений

Состав набора:

Микроколоники	100 шт
2 мл пробирки	100 шт
Лизис-буфер	30 мл
Буфер ВВ1 (концентрат)	20 мл
Буфер WB1 (концентрат)	60 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	30 мл

Примечание:

- В **Буфер ВВ1** перед использованием необходимо добавить 20 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В **Буфер WB1** перед использованием необходимо добавить 20 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В **Раствор для промывки 2** перед использованием необходимо добавить 70 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- Если дополнительно не указано, то все этапы выделения выполняются при комнатной температуре.

1. Осадить клетки центрифугированием на низких оборотах, удалить супернатант.
2. Ресуспендировать осадок в 250 мкл **Лизис-буфера**. Инкубировать 15 минут на льду.

*Оптимальный выход достигается при использовании 250 мкл **Лизис-буфера** на 500 тыс. клеток. При выделении ДНК из большого количества клеток рекомендуется увеличить количество **Лизис-буфера**.*

3. Центрифугировать 15 минут при 13000 об/мин. Отобрать супернатант.
4. К супернатанту добавить равный объем **ВВ1** и перемешать.
5. Внести в колонку 200 мкл **WB1**. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.

Необходимо учитывать, что объем колонки составляет 700 мкл. Если объем выделяемого образца превышает 700 мкл, последовательно нанести на фильтр весь образец, каждый раз удаляя фильтрат.

6. Внести в колонку образец из п. 3. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
7. Нанести на фильтр 300 мкл **WB1**. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин.
8. Повторить п. 6.
9. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствор для промывки 2**. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин.
10. Повторить п. 9.
11. Вылить содержимое 2 мл пробирки. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.

12. Перенести колонку в новую 1,5 мл пробирку. Нанести на фильтр 150 мкл дистиллированной воды (либо деионизованной, или автоклавированной, обязательно проверенной на отсутствие ДНК-аз и РНК-аз).

Минимальный объем воды, которым можно проводить элюцию – 30 мкл, максимальный – 150 мкл. При элюции 30 мкл воды достигается максимальная концентрация РНК в образце. При элюции 100 мкл - максимальный выход.

13. Инкубировать микроколону 1-3 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать 1 минуту при 13000 об/мин.

14. 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°C .

Сроки годности и особенности хранения:

- Все растворы хранить при $+15-25^{\circ}\text{C}$;
- Пробирки и микроколону хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора - 12 месяцев, начиная с даты изготовления.

