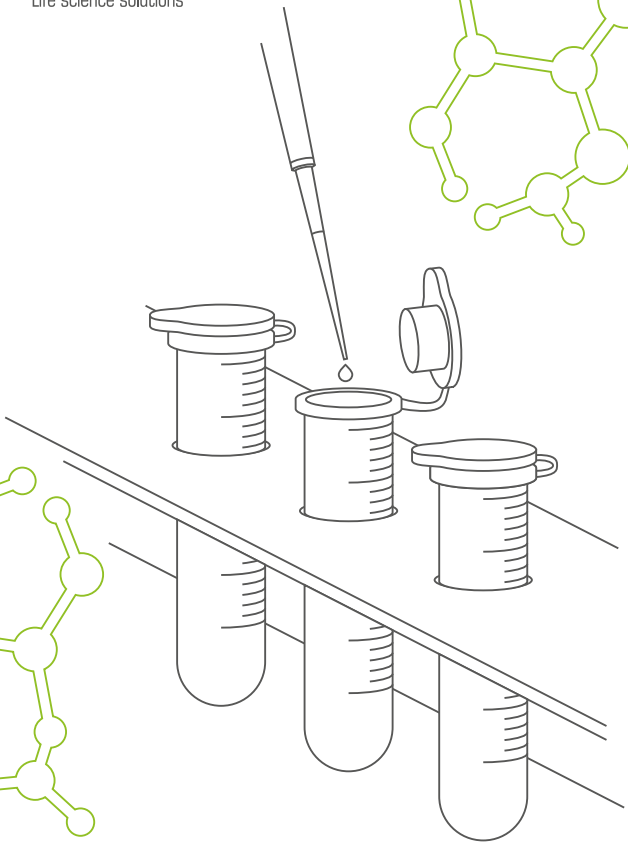
Lumiprobe
Life science solutions



Инструкция к набору LumiPure® UNI для выделения нуклеиновых кислот из биообразцов методом преципитации

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

Contents

Русский: Инструкция к набору LumiPure® UNI для выделения нуклеиновых кислот из биообразцов методом преципитации 3-11

RU

Инструкция к набору LumiPure® UNI для выделения нуклеиновых кислот из биообразцов методом преципитации

Набор предназначен для выделения тотальной нуклеиновой кислоты из широкого спектра биологических образцов: тканей и органов растений и животных, плазмы крови, лейкоцитов, культур клеток млекопитающих и грамотрицательных бактерий, соскобов эпителиальных клеток, мазков, смывов и др. жидких образцов биологических жидкостей. Полученный препарат тотальной нуклеиновой кислоты подходит для последующего проведения ПЦР и ОТ-ПЦР.

Состав набора

Компонент набора	Количество 34663 100 assays
P7450, Лизирующий раствор NA, 30 mL	1
R7050, Раствор для преципитации, 40 mL	1
S8150, Промывочный раствор 1, 50 mL	1
S6050, Промывочный раствор 2, 50 mL	1
G5850, Буфер для растворения NA, 5 mL	1

Хранить при температуре от +2°C до +8°C. Транспортировка: до 3 недель при температуре до +30°C.

Срок хранения 12 месяцев.

Необходимое оборудование и материалы, не входящие в состав набора:

- Твердотельный термостат (возможно использование водяной бани);
- Центрифуга с ротором для пробирок объёмом 1,5 мл со скоростью вращения не менее 13000 об/мин (11000 × *g*);
- Микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл (1-2 пробирки для выделения из 1 образца);
- Дополнительные материалы (в зависимости от образца):
    - *ткани растений и животных:* жидкий азот, ступка и пестик, вода
    - *культуры клеток животных и бактерий:* натрий-фосфатный буфер (PBS)
    - *жидкие образцы, мазки и смывы, фекалии:* стерильный физиологический раствор
    - *мокрота:* муколизин

Перед началом работы

При наличии осадка в *лизирующем растворе NA* прогрейте его в термостате до температуры не выше +50°C и дождитесь полного растворения осадка.

Подготовка образца

Ткани растений и животных

В качестве образца для выделения нуклеиновых кислот рекомендуется брать 20-30 мг ткани животного или растения. Для выделения могут использоваться как свежие, так и замороженные образцы тканей.

! Хранение образцов тканей при -70°C в течение нескольких месяцев.

1. Поместите свежий или замороженный (-70°C) кусочек ткани в жидкий азот.
2. Перенесите замороженный образец ткани в ступку и тщательно гомогенизируйте образец до состояния порошка.
3. Пересыпьте порошок в отдельную пробирку объёмом 1,5 мл. Дождитесь испарения жидкого азота, при этом не позволяйте образцу оттаять.
4. Добавьте к гомогенату (в указанном порядке): 300 мкл *лизирующего раствора NA*, 100 мкл воды. Перемешайте.
5. Переходите к разделу «Выделение нуклеиновых кислот», пункт 2.

Культуры клеток животных и бактерий

Для выделения нуклеиновых кислот данным набором рекомендуется брать не более 1-2 × 10^6 животных клеток и 10^9 клеток грамотрицательных бактерий.

Адгезионная культура клеток животных: удалите культуральную жидкость, снимите культуру клеток с поверхности пластика трипсином или другим рекомендованным для данной культуры методом. Центрифугируйте клетки 5 мин, 300 × *g*. Удалите супернатант. Ресуспендируйте находящиеся в осадке клетки в 100 мкл PBS. Перенесите суспензию клеток в новую пробирку объёмом 1,5 мл.

Суспензионная культура клеток животных: отберите объём культуральной жидкости, содержащий необходимое число клеток. Центрифугируйте клетки 5 мин, 300 × *g*. Удалите супернатант. Ресуспендируйте находящиеся в осадке клетки

в 100 мкл PBS. Перенесите суспензию клеток в новую пробирку объёмом 1,5 мл.

Бактериальная культура: бактерии, выращенные на твердой или жидкой питательной среде, соберите центрифугированием в течение 5-10 минут, 3000-5000 × *g*. Удалите супернатант.Ресуспендируйте находящиеся в осадке клетки в 100 мкл PBS. Перенесите суспензию клеток в новую пробирку объёмом 1,5 мл.

Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Плазма крови

Данный набор подходит для выделения нуклеиновых кислот из плазмы крови. Для получения плазмы следует использовать образцы цельной периферической крови, содержащие в качестве антикоагулянта ЭДТА в конечной концентрации 2,0 мг/мл или цитрат натрия.

! Не допускается использовать гепарин в качестве антикоагулянта.

! Время от момента взятия периферической крови до получения плазмы не должно составлять более 6 часов.

1. Перемешайте переворачиванием пробирку с кровью, чтобы содержимое пробирки стало гомогенным.
2. Центрифугируйте пробирку с кровью 20 мин, 900 × *g* при комнатной температуре (+18-25°C).
3. Отберите 100 мкл верхней фракции (плазмы) и перенесите в отдельную пробирку объёмом 1,5 мл.
4. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

! Хранение плазмы при -20°C не более 3 месяцев.

Соскобы эпителиальных клеток

Данный набор подходит для выделения тотальной нуклеиновой кислоты из соскобов эпителиальных клеток, взятых с помощью одноразового стерильного зонда (буккального эпителия, с задней стенки глотки, носоглотки, из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища и т.д.).

1. Внесите 500 мкл физиологического раствора (стерильного) в пробирку объёмом 1,5 мл.
2. Тщательно промойте в физиологическом растворе зонд с соскобом эпителиальных клеток. Прижмите к стенке ватный тампон и вращательным движением отожмите из него остатки физиологического раствора.
3. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Тщательно удалите супернатант.
4. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
5. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Моча

1. Внесите 1 мл образца мочи в чистую пробирку объёмом 1,5 мл.
2. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Тщательно удалите супернатант.
3. Ресуспендируйте осадок в 1 мл физиологического раствора (стерильного).
4. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант.
5. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
6. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Слюна, ликвор, синовиальная жидкость

1. Внесите 500 мкл образца в отдельную пробирку объёмом 1,5 мл.
2. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант, оставив в пробирке около 50 мкл.
3. Ресуспендируйте осадок в 500 мкл физиологического раствора (стерильного).
4. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант.
5. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
6. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Сперма, секрет предстательной железы

1. Внесите 100 мкл образца в отдельную пробирку 1,5 мл.
2. Добавьте к образцу 500 мкл физиологического раствора (стерильного). Перемешайте содержимое пробирки на вортексе в течение 5-10 сек.
3. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант.
4. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
5. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Мазки и смывы

1. Поместите образец в пробирку для центрифугирования.
2. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант.
3. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
4. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Фекалии

1. Внесите 1 мл физиологического раствора (стерильного) в чистую пробирку объёмом 1,5 мл.
2. Поместите в пробирку с физиологическим раствором около 250 мг (мкл) фекалий.
3. Перемешайте содержимое пробирки на вортексе в течение 5-10 сек.
4. Центрифугируйте 3 мин, 100 × *g*.
5. Перенесите 800-1000 мкл супернатанта в отдельную пробирку 1,5 мл.
6. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант.
7. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
8. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Мокрота

1. В контейнер с образцом добавьте муколизин в соотношении 5:1 (5 частей муколизина : 1 часть мокроты), ориентируясь по градуировке контейнера.
2. Закройте крышку контейнера, встряхните содержимое пробирки и инкубируйте 20-30 мин при комнатной температуре, каждые 2-3 мин встряхивая контейнер.

   ! Обработанную мокроту допускается хранить в контейнере в течение суток при +4°C или долговременно при -20°C.
3. Внесите 500 мкл полученного обработанного муколизином образца мокроты в отдельную пробирку объёмом 1,5 мл.
4. Центрифугируйте 10 мин, 11000 × *g*. Удалите супернатант.
5. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл физиологического раствора (стерильного).
6. Переходите к разделу **«Выделение нуклеиновых кислот»**.

Выделение нуклеиновых кислот

Работы следует выполнять при комнатной температуре, все центрифугирования (если иное прямо не оговорено) при скорости >13000 об/мин (>11000 × *g*).

Перед началом работы установите термостат на +65°C, поместите в него пробирку с *буфером для растворения NA*.

Подготовьте образец в объеме 100 мкл в пробирке объёмом 1,5 мл согласно разделу **«Подготовка образца»**.

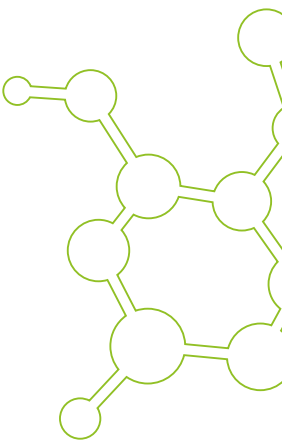
1. В пробирку с образцом (100 мкл) добавьте 300 мкл *лизирующего раствора NA*, тщательно перемешайте содержимое пробирки на вортексе.
2. Инкубируйте полученную смесь 15 мин при +65°C.
3. *(опционально)* Если образец после лизиса содержит нерастворенные компоненты, центрифугируйте пробирку с образцом 10 мин. Перенесите супернатант в новую пробирку объёмом 1,5 мл.
4. Добавьте к образцу 400 мкл *раствора для преципитации*, перемешайте на вортексе. Центрифугируйте 15 минут.
5. Аккуратно удалите супернатант, не задевая осадок. К осадку добавьте 500 мкл *промывочного раствора 1*, перемешайте на вортексе. Центрифугируйте 5 мин.
6. Аккуратно удалите супернатант, не задевая осадок. К осадку добавьте 500 мкл *промывочного раствора 2*, перемешайте на вортексе. Центрифугируйте 5 мин.
7. Тщательно удалите супернатант, не задевая осадок. Подсушите осадок 5 минут в пробирке с открытой крышкой при +65°C.
8. Добавьте 50 мкл предварительно прогретого до +65°C *буфера для растворения NA*.
9. Инкубируйте пробирку с образцом 5-10 минут при +65°C. Перемешайте содержимое пробирки на вортексе, сбросьте капли центрифугированием. Полученный препарат тотальной нуклеиновой кислоты готов для постановки реакции ПЦР/ОТ-ПЦР без дополнительной пробоподготовки.

Хранение выделенной РНК: *Из-за нестабильности РНК выделенный образец хранить не рекомендуется.* Полученный препарат РНК необходимо сразу использовать для постановки реакции обратной транскрипции.

Хранение выделенной ДНК: кратковременно при +4°C, долговременно при -20°C не более одного месяца или при -70°C не более одного года.

Ver. MJ4Q6
#5555N

22.09.509-QM
Issued by INSPECT



www.lumiprobe.com