

Хранение биологических образцов в растворе для стабилизации и хранения РНК KeepRNA

KeepRNA — нетоксичный водный раствор, быстро проникающий в клетки и ткани, и защищающий РНК от деградации. Раствор является полным аналогом RNAlater™. KeepRNA используется для быстрой стабилизации и хранения клеточной РНК в тканях и клеточных культурах. Раствор позволяет хранить и транспортировать образцы до 7 дней при комнатной температуре или около 1 месяца при 4°C, не прибегая к трудоемким процедурам быстрого выделения РНК или предварительному замораживанию ткани.

Клетки и ткани после хранения в KeepRNA можно использовать для дальнейшего выделения из них мРНК и тотальной РНК, а также для гистологических и иммунохимических методик. KeepRNA совместим со всеми основными методами и наборами для выделения РНК. РНК, выделенная из фрагментов ткани после хранения в KeepRNA, сохраняет свой качественный и количественный состав и может быть использована в дальнейшем для любых молекулярно-биологических задач.

Помимо РНК, из образцов, стабилизированных KeepRNA, также можно экстрагировать ДНК и белки. Следует учитывать, что под действием раствора KeepRNA белки денатурируют. Поэтому экстрагированные белки пригодны для использования только в методах, не требующих нативной конформации, таких как вестерн-блоттинг и двумерный электрофорез.

Типы образцов совместимые с KeepRNA

KeepRNA может использоваться для сохранения РНК в большинстве типов животных и растительных тканей, культивируемых клеток, бактерий и дрожжей. Исключением являются ткани, плохо пропитывающиеся раствором, такие как восковидные растительные ткани и костная ткань.

Пробоподготовка биологических образцов

Животная ткань

Раствор KeepRNA не нарушает структуру тканей. Это позволяет извлекать пропитанный образец из раствора, разделять на части для анализа и, при необходимости, возвращать в реагент для дальнейшего хранения.

Небольшие органы (например, печень, почка или селезёнка лабораторных животных) могут храниться в растворе целиком, без предварительного рассечения.

Кровь

KeepRNA эффективен только для выделенных лейкоцитов (очищенных от эритроцитов и сыворотки), которые следует обрабатывать как клеточную культуру. Не используйте KeepRNA для цельной крови, плазмы или сыворотки — это приведет к образованию нерастворимого осадка.

Растительная ткань

Для тканей с естественными барьерами (такими как восковидный кутикулярный слой) может потребоваться предварительное нарушение целостности для обеспечения эффективного проникновения раствора KeepRNA.

В то же время многие растительные образцы можно просто целиком погрузить в раствор KeepRNA.

Культуры клеток

Осадите клетки в соответствии с принятым в вашей лаборатории протоколом. Удалите супернатант и добавьте 5–10 объемов раствора KeepRNA. При необходимости перед ресуспензированием в KeepRNA клетки можно промыть фосфатно-солевым буфером (PBS).

Бактериальные культуры

KeepRNA обладает бактериостатическим действием, предотвращая размножение бактерий при сохранении целостности их клеток. Хранение образцов рекомендуется при 4°C.

Хранение биологических образцов в KeepRNA

Образцы тканей

- Сберите нативные образцы ткани сразу после их извлечения. Для оптимального проникновения реагента нарежьте ткань на мелкие фрагменты толщиной не более 0,5 см в любом измерении.
- Положите фрагменты ткани в пробирку с 5-кратным объемом раствора KeepRNA. Например, образец ткани весом 0,5 г должен быть полностью погружен как минимум в 2,5 мл KeepRNA. Небольшие органы (например, почку крысы) можно помещать в раствор целиком.
- Раствор KeepRNA обеспечивает гибкие условия хранения в зависимости от требуемого срока:
 - До 1 дня: при 37°C
 - До 1 недели: при 25°C
 - До 1 месяца и дольше: при 4°C

Культуры клеток

- Сберите и осадите клетки в соответствии со стандартным лабораторным протоколом.
- Удалите супернатант и промойте клеточный осадок небольшим объемом фосфатно-солевого буфера (PBS).
- Смешайте ресуспендированные клетки с 5–10-кратным объемом KeepRNA.
- Храните образец, следуя тем же температурным рекомендациям, что и для нативных образцов тканей

Выделение РНК

Перед началом процедуры выделения РНК раствор KeepRNA должен быть полностью удален из образца.

1. Удалите KeepRNA из образца. Инактивация РНКазы является обратимой, поэтому не промывайте образец водой.
 - Для тканей: промокните ткань чистой салфеткой, чтобы удалить излишки KeepRNA.
 - Для клеток: осадите клетки и удалите супернатант. Поскольку KeepRNA имеет более высокую плотность, чем обычная среда, может потребоваться увеличенная скорость центрифугирования (например, 5 000× g). Альтернативно, перед центрифугированием можно разбавить KeepRNA равным объемом холодного PBS (4°C).
2. Лизируйте и гомогенизируйте образец. Непосредственно к образцу добавьте лизирующий раствор для выделения РНК и немедленно проведите гомогенизацию. Для более твердых тканей (например, кости) может потребоваться предварительное измельчение в жидком азоте.
3. Выделяйте РНК по стандартному протоколу. Гомогенизированный образец теперь можно обрабатывать с использованием большинства стандартных методов выделения РНК.