

Хранение биологических образцов в растворе для стабилизации и хранения РНК КеерRNA

КеерRNA — нетоксичный водный раствор, быстро проникающий в клетки и ткани, и защищающий РНК от деградации. Раствор является полным аналогом RNAlater™. КеерRNA 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 КеерRNA можно использовать для дальнейшего выделения из них мРНК и тотальной РНК, а также для гистологических и иммунохимических методик. КеерRNA совместим со всеми основными методами и наборами для выделения РНК. РНК, выделенная из фрагментов ткани после хранения в КеерRNA, сохраняет свой качественный и количественный состав и может быть использована в дальнейшем для любых молекулярно-биологических задач.

Помимо РНК, из образцов, стабилизированных КеерRNA, также можно экстрагировать ДНК и белки. Следует учитывать, что под действием раствора КеерRNA 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 КеерRNA

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

Робоподготовка биологических образцов

Животная ткань

Раствор КеерRNA 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 селезенка лабораторных животных) могут храниться в растворе целиком, без предварительного рассечения.

Кровь

КеерRNA эффективен только для выделенных лейкоцитов (очищенных от эритроцитов и сыворотки), которые следует обрабатывать как клеточную культуру. Не используйте КеерRNA 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

1. Соберите 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.
2. 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.
3. 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

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

Выделение РНК

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

1. Удалите КеерRNA из образца. Инактивация РНКазы является обратимой, поэтому не промывайте образец водой.
 - Для ткани: промокните ткань чистой салфеткой, чтобы удалить излишки КеерRNA.
 - Для клеток: осадите клетки и удалите супернатант. Поскольку КеерRNA имеет более высокую плотность, чем обычная среда, может потребоваться увеличенная скорость центрифугирования (например, 5 000× *g*). Альтернативно, перед центрифугированием можно разбавить КеерRNA 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.

Lumiprobe Corporation

115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd

Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited

Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD

2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.

10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com