

## GeneMATRIX Universal RNA/miRNA Purification Kit

Zestaw do izolacji całkowitego RNA oraz miRNA z tkanek zwierzęcych, roślin lub hodowli komórkowych.

● **kat. nr. E3599**

EURx Ltd. 80-297 Gdansk Poland  
ul. Przyrodników 3, NIP 957-07-05-191  
KRS 0000202039, [www.eurx.com.pl](http://www.eurx.com.pl)  
orders: email: [orders@eurx.com.pl](mailto:orders@eurx.com.pl)  
tel. +48 58 524 06 97, fax +48 58 341 74 23





## Spis treści

Uwagi wstępne.....	3
Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika .....	4
Protokół.....	5
Część I    Rozdrobnienie i liza próbki.....	5
Tkanki zwierzęce.....	5
Tkanki roślinne .....	5
Hodowle komórkowe.....	6
Część II    Homogenizacja, usuwanie DNA oraz wiązanie całkowitego RNA razem z miRNA.....	7
Część III    Homogenizacja, usuwanie DNA oraz wiązanie samego miRNA.....	8
Część IV    Płukanie i elucja RNA/miRNA.....	9
Dodatek 1:.....	10
Homogenizacja, usuwanie DNA oraz wiązanie osobno wielkocząsteczkowego RNA oraz miRNA (przy użyciu dwóch minikolumn).....	10
Dodatek 2:.....	11
Oczyszczanie RNA/miRNA po reakcjach enzymatycznych.....	11
Środki ostrożności.....	13

## Uwagi wstępne

**UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu.** Zestaw przeznaczony jest do izolacji całkowitego RNA wspólnie z małowcząsteczkowym RNA (15-30 nukleotydów) lub do otrzymania samego małowcząsteczkowego RNA (miRNA). Procedura nie wymaga użycia fenolu ani chloroformu. Zestaw może być użyty do izolacji RNA/miRNA z tkanek zwierzęcych, roślin lub hodowli komórkowych.

**UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału.** Maksymalna pojemność minikolumny wiążącej RNA to 125 µg. Maksymalna objętość płynu nanoszonego na minikolumny to 650 µl. Przeladowanie minikolumn zmniejsza wydajność i obniża jakość wyizolowanego materiału. Może również spowodować zapchanie się minikolumn.

**UWAGA 3 • β-Merkaptoetanol / DTT.** Aby wspomóc redukcję wiązań dwusiarczkowych i unieszkodliwić ewentualnie obecne RNazy należy dodać odczynnik redukujący, taki jak β-merkaptoetanol (β-ME) lub dithiothreitol (DTT). Przed użyciem buforu Lyse ALL oraz RL do 1 ml dodać 10 µl β-merkaptoetanolu (β-ME, 14.3M). Po dodaniu β-ME buforu Lyse ALL oraz RL są stabilne przez 1 miesiąc. Alternatywą jest dodanie do 1 ml tychże buforów 10 µl DTT (dodawac [1 M] roztwór DTT w wodzie wolnej od RNaz). DTT nie jest stabilny w buforze RL lub Lyse ALL stąd należy przechowywać buforów po zmieszaniu. 1M roztwór DTT powinien być przechowywany w -20°C w małych porcjach aby zapobiec częstemu rozmrażaniu. Aby przygotować 1 M roztwór DTT (MW = 154,25 g mol<sup>-1</sup>) należy rozpuścić 1.54 g DTT w 10 ml wody wolnej od RNaz i przechowywać w małych porcjach do jednokrotnego użytku.

**UWAGA 4 • Przechowywanie składników zestawu.** Po rozpakowaniu, zestaw należy przechowywać w temperaturze pokojowej, za wyjątkiem minikolumn homogenizacyjnych i wiążących RNA, które należy przechowywać w 2-8°C.

**UWAGA 5 • Dobra praktyka laboratoryjna.** Dla otrzymania RNA o wysokiej czystości istotne jest dokładne stosowanie się do zaleceń protokołu. Czynności należy wykonać możliwie szybko. Wszystkie kroki należy przeprowadzić w temperaturze pokojowej. Należy uważać, aby w trakcie wykonywania czynności związanych z protokołem nie wprowadzić śladów RNaz. Wszelkie roztwory z zestawu należy przechowywać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zmiany stężeń w wyniku parowania.

<b>Składniki zestawu</b>	<b>25 izolacji E3599-01</b>	<b>100 izolacji E3599-02</b>	<b>Warunki przechowywania</b>
Lyse ALL	6 ml	24 ml	15-25°C
RL	15 ml	60 ml	15-25°C
Wash miRNA	30 ml	120 ml	15-25°C
RNase-free water	3 ml	12 ml	15-25°C
Homogenization Columns	25 szt.	2 x 50 szt.	2-8°C
RNA Binding Columns	25 szt.	2 x 50 szt.	2-8°C
Protokół	1	1	

### **Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika**

- Do wszystkich protokołów:  $\beta$ -merkaptoetanol (14.3 M,  $\beta$ -ME) lub [1 M] Dithiothreitol (DTT) w wodzie wolnej od RNaz, etanol 96-100%, mikrowirówka, rękawiczki, jałowe wolne od RNaz tipsy, jałowe wolne od RNaz próbki 1.5-2 ml.
- Do protokołu z tkanek roślinnych i zwierzęcych – sprzęt konieczny do rozdrobnienia i homogenizacji tkanek. W zależności od wybranej metody: młyn do kawy i ciekły azot lub mechaniczny homogenizator.
- Opcjonalnie do protokołu z tkanek roślinnych i zwierzęcych – odczynnik redukujący pianę do roztworów lizujących AFR01, EURx nr kat. E0328. W wielu przypadkach pierwszym etapem izolacji RNA jest rozdrobnienie i homogenizacja próbki. Przeprowadza się ją w buforach lizujących bogatych w detergenty, które powodują znaczne spienienie mieszaniny homogenizacyjnej. Widoczne jest to zwłaszcza podczas użycia homogenizatorów mechanicznych, bądź wytrząsania próbek z różnego rodzaju kulkami rozdrabniającymi. Aby zapobiec tworzeniu się nadmiaru piany, można dodać odczynnik AFR01 do buforu Lyse ALL w ilości 5  $\mu$ l na 1 ml roztworu [0.5% (v/v)] i dobrze wymieszać. W przypadku bardzo silnego spienienia, po homogenizacji próbkę należy zwirować z prędkością 8 000 x g przez 30 sekund.

# Protokół

## Część I Rozdrobnienie i liza próbki

### Tkanki zwierzęce

- Zamrozić fragment tkanki w ciekłym azocie, a następnie dokładnie rozdrobnić, używając do tego celu wcześniej schłodzonego moździerza i tłuczka. Umieścić rozdrobnioną tkankę w schłodzonej, RNase-free 2 ml próbówce typu Eppendorf. Dodać 200 µl buforu Lyse ALL oraz 300 µl buforu RL do rozdrobnionej tkanki. Dokładnie wymieszać przez pipetowanie i worteksowanie.
  - Rozdrobnić fragment tkanki (świeży lub zamrożony) mechanicznie za pomocą homogenizatora w 300 µl buforu RL. Do rozdrobnionej próbki dodać 200 µl Lyse ALL.
    - Nie należy używać więcej niż 20 mg tkanek. Korzystając z homogenizatora mechanicznego należy użyć do 10 razy mniej materiału do izolacji niż w przypadku moździerza i tłuczka.
    - Fragment tkanki należy zhomogenizować/rozbić jak najdrobniej, gdyż jest to etap decydujący o wydajności izolacji. W celu podniesienia wydajności izolacji zalecamy użycie homogenizatora mechanicznego.
    - Zamrożone tkanki nie powinny ulec rozmrożeniu.
    - Upewnić się czy do buforu Lyse ALL i buforu RL został dodany β-ME lub DTT (uwaga 3 strona 3).
- Wirować próbkę przez 3 min z maksymalną prędkością.
- W zależności od potrzeb przejść do części II protokołu lub ostrożnie przenieść supernatant do nowej, RNase-free, próbówki 1.5-2 ml typu Eppendorf i przejść do części III protokołu.

### Tkanki roślinne

- Zamrozić fragment tkanki roślinnej w ciekłym azocie, a następnie dokładnie rozdrobnić, używając do tego celu wcześniej schłodzonego moździerza i tłuczka. Umieścić rozdrobnioną tkankę (max. 100 mg) w schłodzonej, RNase-free 2 ml próbówce typu Eppendorf. Dodać 200 µl buforu Lyse ALL oraz 100 µl buforu RL do rozdrobnionej tkanki. Dokładnie wymieszać przez worteksowanie.
  - Rozdrobnić fragment tkanki (świeży lub zamrożony) mechanicznie za pomocą homogenizatora w mieszaninie 200 µl buforu Lyse ALL oraz 100 µl buforu RL.
    - Nie należy używać więcej niż 100 mg tkanek. Korzystając z homogenizatora mechanicznego należy użyć do 10 razy mniej materiału do izolacji niż w przypadku moździerza i tłuczka.



- Fragment tkanki należy zhomogenizować/rozbić jak najdrobniej, gdyż jest to etap decydujący o wydajności izolacji. W celu podniesienia wydajności izolacji zalecamy użycie homogenizatora mechanicznego.
  - Zamrożone tkanki nie powinny ulec rozmrożeniu.
  - Upewnić się czy do buforu Lyse ALL i buforu RL został dodany  $\beta$ -ME lub DTT (uwaga 3 strona 3).
2. Wirować próbkę przez 4 min z maksymalną prędkością.
  3. Ostrożnie przenieść supernatant do nowej, RNase-free, probówki 1.5-2 ml typu Eppendorf i dodać 0.7 objętości buforu **RL**. Dokładnie wymieszać przez pipetowanie.
    - Np.: jeżeli otrzymano 250  $\mu$ l supernatantu należy dodać 175  $\mu$ l buforu RL.
  4. W zależności od potrzeb przejść do części II lub III protokołu.

## Hodowle komórkowe

1. W probówce 2 ml typu Eppendorf zwirować hodowlę komórek z prędkością 1 000 x g przez 5 min. Ostrożnie wybrać supernatant znad osadu.
  - Nie należy używać więcej niż  $5 \times 10^6$  komórek.
2. Dodać 400  $\mu$ l buforu **RL** do osadu. W celu homogenizacji dokładnie wymieszać przez pipetowanie i wortexowanie.
  - Upewnić się czy do buforu RL został dodany  $\beta$ -ME lub DTT (uwaga 3 strona 3).
3. Dodać 100  $\mu$ l buforu **Lyse ALL** do rozdrobnionych komórek. Dokładnie wymieszać.
  - Upewnić się czy do buforu Lyse ALL został dodany  $\beta$ -ME lub DTT (uwaga 3 strona 3).
4. Wirować próbkę przez 2 min z maksymalną prędkością.
5. W zależności od potrzeb przejść do części II protokołu lub ostrożnie przenieść supernatant do nowej, RNase-free, probówki 1.5-2 ml typu Eppendorf i przejść do części III protokołu.

## Część II Homogenizacja, usuwanie DNA oraz wiązanie całkowitego RNA razem z miRNA

1. Ostrożnie przenieść supernatant do **minikolumny homogenizacyjnej** umieszczonej w 2 ml probówce odbierającej. Wirować przez 2 min z maksymalną prędkością.
  - o *Wirowanie przez minikolumnę homogenizacyjną filtruje i homogenizuje lizat oraz eliminuje DNA.*
2. Do przesączu (flow-through) dodać 1.2 objętości alkoholu etylowego (96-100%). Wymieszać dokładnie przez pipetowanie. Nie wirować.
  - o *Np.: jeżeli otrzymano 400 µl supernatantu należy dodać 480 µl etanolu.*
  - o *Po dodaniu etanolu może strącić się osad.*
3. Przenieść maksymalnie 600 µl mieszaniny (razem z osadem jeżeli powstał) do **minikolumny wiążącej RNA** umieszczonej w probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
4. Przenieść pozostałość mieszaniny do tej samej **minikolumny wiążącej RNA**. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
5. Przejść do części IV protokołu.

### Część III Homogenizacja, usuwanie DNA oraz wiązanie samego miRNA

1. Do supernatantu z ostatniego punktu części I protokołu dodać 0.3 objętości alkoholu etylowego (96-100%). Wymieszać dokładnie przez pipetowanie. Nie wirować.
  - o Np.: jeżeli otrzymano 400  $\mu$ l supernatantu należy dodać 120  $\mu$ l etanolu.
  - o Po dodaniu etanolu może strącić się osad.
2. Ostrożnie przenieść mieszaninę (razem z osadem jeżeli powstał) do **minikolumny homogenizacyjnej** umieszczonej w 2 ml probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z maksymalną prędkością. Nie wylewać przesączu.
  - o Wirowanie przez minikolumnę homogenizacyjną filtruje i homogenizuje lizat oraz eliminuje DNA i w tym przypadku również wielkocząsteczkowe RNA.
3. Do przesączu (flow-through) dodać dodatkowe 0.9 objętości alkoholu etylowego (96-100%). Wymieszać dokładnie przez pipetowanie. Nie wirować.
  - o Np.: jeżeli po ostatnim punkcie części I protokołu otrzymano 400  $\mu$ l supernatantu teraz należy dodać jeszcze 360  $\mu$ l etanolu.
4. Przenieść maksymalnie 600  $\mu$ l mieszaniny (razem z osadem jeżeli powstał) do **minikolumny wiążącej RNA** umieszczonej w probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
5. Przenieść pozostałość mieszaniny do tej samej **minikolumny wiążącej RNA**. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
6. Przejść do części IV protokołu.



## Część IV Płukanie i elucja RNA/miRNA

1. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash miRNA** do minikolumny. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
2. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i powtórnie umieścić minikolumnę w probówce.
3. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash miRNA** do minikolumny. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
4. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i powtórnie umieścić minikolumnę w probówce.
5. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g w celu usunięcia resztek buforu płuczącego.
6. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 30-100 µl wody RNase-free centralnie na membranę.
7. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g.
8. Usunąć minikolumnę, zamknąć probówkę. RNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji. Powinno być przechowywane zamrożone w -20°C.

## Dodatek 1:

### Homogenizacja, usuwanie DNA oraz wiązanie osobno wielkocząsteczkowego RNA oraz miRNA (przy użyciu dwóch minikolumn)

1. Ostrożnie przenieść supernatant, z ostatniego punktu części I protokołu, do **minikolumny homogenizacyjnej** umieszczonej w 2 ml probówce odbierającej. Wirować przez 2 min z maksymalną prędkością.
  - o *Wirowanie przez minikolumnę homogenizacyjną filtruje i homogenizuje lizat oraz eliminuje DNA.*
2. Do przesączu (flow-through) dodać 0.3 objętości alkoholu etylowego (96-100%). Wymieszać dokładnie przez pipetowanie. Nie wirować.
  - o *Np.: jeżeli otrzymano 400 µl supernatantu należy dodać 120 µl etanolu.*
  - o *Po dodaniu etanolu może strącić się osad.*
3. Ostrożnie przenieść mieszaninę (razem z osadem jeżeli powstał) do **minikolumny wiążącej RNA** umieszczonej w 2 ml probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z maksymalną prędkością. Nie wylewać przesączu.
4. Przechować **minikolumnę wiążącą RNA** w temperaturze 2-8°C do późniejszego oczyszczania wielkocząsteczkowego RNA (część IV protokołu - Płukanie i elucja RNA/miRNA). Użyć przesącz (flow-through) do izolacji miRNA.
  - o *Kolumna ta zawiera tylko RNA wielkocząsteczkowe.*
5. Do przesączu (flow-through) dodać dodatkowe 0.9 objętości alkoholu etylowego (96-100%). Wymieszać dokładnie przez pipetowanie. Nie wirować.
  - o *Np.: jeżeli w pkt. 2 Dodatku 1 otrzymano 400 µl supernatantu należy dodać 360 µl etanolu.*
6. Przenieść maksymalnie 600 µl mieszaniny (razem z osadem jeżeli powstał) do nowej **minikolumny wiążącej RNA** umieszczonej w probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
7. Przenieść pozostałość mieszaniny do tej samej **minikolumny wiążącej RNA**. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
  - o *Kolumna ta zawiera tylko miRNA.*
8. Przejdź do części IV protokołu (Płukanie i elucja RNA/miRNA).

## Dodatek 2:

### Oczyszczanie RNA/miRNA po reakcjach enzymatycznych

**UWAGA 1** • Protokół przeznaczony jest do doczyszczania całkowitego RNA (również miRNA) po reakcjach enzymatycznych (np. oczyszczanie RNA otrzymanego przy użyciu T7 Transcription Kit EURx E0901).

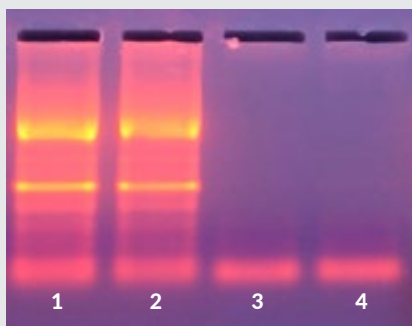
**UWAGA 2** • Maksymalna objętość roztworu RNA to 100 µl. Minimalna to 30 µl. W przypadku mniejszej objętości niż 30 µl dopełnić wodą wolną od RNaz do 30 µl.

**UWAGA 3** • Procedura eliminuje DNA z roztworu.

**UWAGA 4** • Przed użyciem buforu RL do 1 ml dodać 10 µl β-merkaptoetanolu (β-ME) lub DTT. Patrz uwaga 3 strona 3.

1. Dodać 3 objętości buforu **RL** do 1 objętości roztworu RNA i wymieszać.
  - o Np. do 40 µl roztworu RNA dodać 120 µl buforu RL.
  - o Upewnić się czy do buforu RL został dodany β-ME lub DTT (uwaga 3 strona 3).
2. Przenieść mieszaninę do **minikolumny homogenizacyjnej** umieszczonej w 2 ml próbówce odbierającej. **Wirować** przez 2 min z maksymalną prędkością.
3. Dodać 1.2 objętości 96% alkoholu etylowego do przesączu (flow-through). Wymieszać dokładnie przez pipetowanie. Nie wirować.
  - o Np. do 150 µl przesączu dodać 180 µl etanolu.
4. Przenieść maksymalnie 600 µl mieszaniny (razem z osadem jeżeli powstał) do minikolumny wiążącej umieszczonej w próbówce odbierającej. **Wirować** przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
5. Jeżeli objętość mieszaniny była większa niż 600 µl: przenieść pozostałą mieszaninę do tej samej minikolumny wiążącej umieszczonej w próbówce odbierającej. **Wirować** przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
6. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i powtórnie umieścić minikolumnę w próbówce.
7. Dodać 550 µl buforu płuczącego **Wash miRNA** do minikolumny. **Wirować** przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
8. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i powtórnie umieścić minikolumnę w próbówce.

9. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g w celu usunięcia resztek buforu płuczącego.
10. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 30-100 µl wody RNase-free centralnie na membranę.
11. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g.
12. Usunąć minikolumnę, zamknąć probówkę. RNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji. Powinno być przechowywane zamrożone w -20°C.

**total RNA****miRNA**

	ng/µl	A260/A280	A260/A230
1	127	2.072	2.186
2	115	2.087	2.077
3	11.2	2.154	1.556
4	12.0	2.173	1.500

Całkowite RNA (total RNA) oraz miRNA oczyszczone zestawem GeneMATRIX Universal RNA/miRNA Purification Kit nr kat. E3599 (1 mg wątroby świńskiej na izolację).

# Środki ostrożności

## Lyse ALL

---



### Uwaga

**H319** Działa drażniąco na oczy.

**P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

**P305+P351+P338** W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

**P337+P313** W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

## RL

---



### Uwaga

**H302+H332** Działa szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania.

**H412** Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

**P261** Unikać wdychania par/ rozpylonej cieczy.

**P273** Unikać uwolnienia do środowiska.

**P301+P312** W przypadku połknięcia: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z ośrodkiem zatruc/ lekarzem.

**P304+P340** W przypadku dostania się do dróg oddechowych: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

**EUH032** W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

## Wash miRNA

---



### Niebezpieczeństwo

**H225** Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

**H319** Działa drażniąco na oczy.

**P210** Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

**P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

**P305+P351+P338** W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

**P337+P313** W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

**P403+P235** Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać w chłodnym miejscu.



**DOBÓR ZESTAWU  
W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU  
IZOLOWANEGO MATERIAŁU**

		PRZEWODNIK PO ZESTAWACH DO IZOLACJI KWASÓW NUKLEINOWYCH																					
		E3600	E3865	E3940	E3980	E3910	E3945	E3960	E3955	E3925	E3920	E3995	E3935	E3900	E3865	E3915	E3970	E3975	E3930	E3950	E3951		
		MICELLULIA DNA <sup>1</sup>	GRAM PLUS & YEAST GENOMIC DNA	AGAROSE - OUT DNA	BACTERIAL & YEAST GENOMIC DNA	BIO - TRACE DNA	BASIC DNA	BONE DNA	CELL CULTURE DNA	FOOD EXTRACT DNA	PCR / DNA CLEANUP	PLANT & FUNGI DNA	AGROBACTERIUM PLASMID DNA	PLASMID MINIPREP DNA	QUICK BLOOD DNA	SHORT DNA CLEAN-UP	SOIL DNA	STOOL DNA	SWAB EXTRACT DNA	TISSUE DNA	TISSUE & BACTERIAL DNA		
		DOSTĘPNA ILOŚĆ IZOLACJI																					
		50 150	25 100	50 150	50 150	25 100	50 150	25 100	50 150	25 100	50 150	50 150	50 150	50 150	50 150	25 100	50 100	50 100	25 100	50 150	50 150		
DNA	GENOMOWE	BAKTERIE	●		●																	●	
		DROŻDŻE	●		●																		
		HODOWLE KOMÓRKOWE							●												●	●	
		ROŚLINY											●										
		GRZYBY											●										
		ROŚLINY BOGATE W POLISACHARYDY <sup>2</sup>											●										
		KREW													●								
		GLEBA																●					
		KĄŁ																	●				
		WYMAZY																		●			
		TKANKI ZWIERZĘCE																				●	●
		TKANKI PARAFINA / FORMALINA																				●	●
		OGONY GRZYŻONI																				●	●
		WŁOSY																				●	●
		OWADY																				●	●
		MOCZ																				●	●
		KOŚCI								●													
	ŚLADY BIOLOGICZNE					●																	
	ŻYWNOŚĆ									●													
PLAZMIDOWE	BAKTERIE							●					●	●									
	DROŻDŻE				●																		
IZOLACJA Z AGAROZY				●			●																
OCZYSZCZANIE PO PCR I REAKCJACH ENZYMATYCZNYCH		●					●						●										

Wszystkie zestawy zawierają bufor WASH w formie gotowej do bezpośredniego użytku

1. Dodatkowo wymagany bufor Lyse CT (E0324)
2. Zestaw do tworzenia emulsji i oczyszczania DNA.

- **GeneMATRIX Universal RNA/miRNA Purification Kit jest przeznaczony do szybkiej izolacji całkowitego komórkowego RNA wzbogaconego o małowzrostkowe RNA o długości poniżej 200 nukleotydów (również miRNA 15-30 nukleotydów) lub do izolacji tylko frakcji małowzrostkowego RNA (również miRNA), pochodzącego z różnorodnych źródeł: tkanek zwierząt i ludzi, roślin oraz hodowli komórkowych.**

W trakcie izolacji próbka zostaje rozdrobniona i poddana lizie w obecności buforów denaturujących, które inaktywują RNazy komórkowe. Następnie lizat jest wirowany w mini-kolumnkach o specjalnej konstrukcji, które redukują lepkość lizatu i wiążą fragmenty DNA i ewentualnie wielkowzrostkowe RNA. Dodanie etanolu wytwarza warunki do selektywnego wiązania RNA lub miRNA do membrany GeneMATRIX. Podczas krótkiego wirowania następuje wiązanie RNA do membrany kolumnek wiążących RNA, natomiast niezwiązane

zanieczyszczenia pozostają w wycieku z kolumny. Ich śladowe pozostałości na membranie są skutecznie usuwane w trakcie dwóch etapów płukania. Elucję oczyszczonego RNA wykonuje się wodą redestylowaną, wolną od RNaz. Maksymalna wydajność procesu to ok. 100 µg całkowitego RNA. Oczyszczony preparat RNA/miRNA nadaje się do bezpośredniego użytku. Nie wymaga dalszej precypitacji etanolem. **Proces izolacji miRNA nie wymaga użycia fenolu ani chloroformu.**

- **GeneMATRIX to syntetyczne membrany nowej generacji wiążące DNA i RNA, wykorzystujące selektywne właściwości wiązania kwasów nukleinowych przez kompozytowy SiO<sub>2</sub>. W celu osiągnięcia wysokiej wydajności i czystości otrzymanych kwasów nukleinowych, opracowano wyspecjalizowane bufor wiążące i płuczące, projektowane pod kątem optymalnego wykorzystania właściwości nowych membran.**

Zastosowanie gotowych do użycia membran, umieszczonych w kolumnkach wirowniczych (ang. Spin-format) w połączeniu ze specjalną konstrukcją naszych minikolumn, istotnie poprawia jakość uzyskanego preparatu DNA lub RNA. Celem monitorowania kompletnego wymieszania roztworów oraz ułatwienia procedury izolacji DNA, część roztworów wyznakowano barwnikami.

W efekcie przekazujemy w Państwa ręce zestawy składające się z nowych złóż i buforów reakcyjnych, których użycie gwarantuje szybkie, proste, bezpieczne i jednocześnie wydajne otrzymanie ultraczystych

kwasów nukleinowych. Uzyskane DNA lub RNA nadaje się bezpośrednio do zastosowań w technikach biologii molekularnej, m.in.: trawienia enzymami restrykcyjnymi, defosforylacji/fosforylacji, ligacji, badań oddziaływania białko-DNA, sekwencjonowania, blottingu, translacji *in vitro*, otrzymywania cDNA, hybrydyzacji. Dodatkową zaletą zestawów jest powtarzalność właściwości zarówno membran jak i buforów wiążących, ponieważ przygotowanie komponentów odbywa się w EURx sp. z o.o.



EURx Ltd. 80-297 Gdansk Poland  
ul. Przyrodnikow 3, NIP 957-07-05-191  
KRS 0000202039, [www.eurx.com.pl](http://www.eurx.com.pl)  
orders: email: [orders@eurx.com.pl](mailto:orders@eurx.com.pl)  
tel. +48 58 524 06 97, fax +48 58 341 74 23

