

Link do produktu: <http://www.novazym.sklep.pl/total-rna-purification-kit-100-preparations-3-zone-rna-purification-columns-p-419.html>



Total RNA Purification Kit, 100 preparations (3-zone & RNA purification columns)

Dostępność	Dostępny
Numer katalogowy	RA1000-30

Opis produktu

Total RNA Purification Kit (3-zone & columns)

Total RNA Purification Kit to procedura izolacji całkowitego RNA w oparciu o odczynnik 3-zone oraz oczyszczanie na kolumnkach ze złożem krzemionkowym. Protokół umożliwia izolację całkowitego RNA z próbek o różnym pochodzeniu i w różnej ilości, takich jak tkanki roślinne i zwierzęce, hodowle komórek adherentnych oraz hodowle komórkowe w zawiesinie. Po homogenizacji z użyciem odczynnika 3-zone, całość homogenatu jest nakładana na kolumnkę wypełnioną złożem krzemionkowym, wiążącym kwas nukleinowy RNA. Wszelkie zanieczyszczenia są efektywnie usuwane z próbki poprzez kolejne płukania. Izolowany kwas nukleinowy RNA jest ostatecznie eluowany z kolumny w wodzie wolnej od RNaz i może być bezpośrednio wykorzystany do szeregu aplikacji wymienionych poniżej.

Charakterystyka zestawu:

- bardzo wysoka czystość otrzymanego RNA,
- brak inhibitorów reakcji następujących.
- proces izolacji odbywa się w warunkach temperatury pokojowej

Total RNA Purification KIT umożliwia izolację RNA z:

- tkanek roślinnych
- tkanek zwierzęcych
- izolacja RNA wirusowego z tkanek zwierzęcych i roślinnych.
- hodowli komórek adherentnych
- hodowli komórkowych w zawiesinie

otrzymany wysokiej czystości RNA znajduje zastosowanie w takich technikach jak:

- Rt-qPCR, PCR
- RT-LAMP
- Northern blotting
- Detekcja wirusów RNA
- amplifikacja RNA do analiz mikromacierzowych
- tworzenie bibliotek cDNA

Przechowywanie:

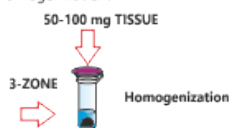
- 2 - 8 °C
- chronić przed światłem

Protokół izolacji

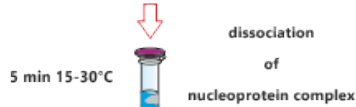
Total RNA purification KIT silica columns & 3-Zone (Novazym Polska)

TISSUE PREPARATION:

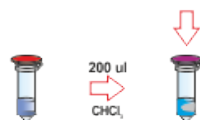
- 1) Isolate of nucleoprotein complex by using a power homogenizer (BIOPREP-24 or equivalent) in **3-ZONE** (1 mL reagent per each 50-100 mg of tissue). The tissue sample volume should not exceed 10% of the volume of 3-ZONE reagent used for homogenization.



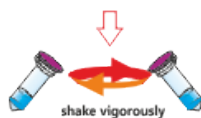
- 2) Incubate the homogenized sample for 5 minutes at 15 to 30°C to permit the complete dissociation of nucleoprotein complexes.



- 2) Add 0.2 mL of chloroform per 1 mL of 3-ZONE Reagent.



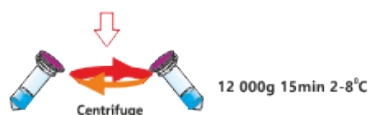
- 3) Cap sample tubes securely, and shake them vigorously by hand for 15 seconds.



- 4) Incubate tubes at 15 to 30°C for 2 to 3 minutes.



- 5) Centrifuge the samples at no more than 12,000 × g for 15 minutes at 2 to 8°C.

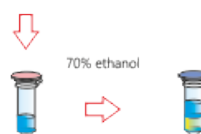


- 6) Following centrifugation, the mixture separates into a lower red, phenol-chloroform phase, an interphase, and a colorless upper aqueous phase. RNA remains exclusively in the aqueous phase. The volume of the aqueous phase is about 60% of the volume of 3-ZONE Reagent used for homogenization.



RNA PURIFICATION:

- 1) Transfer the aqueous phase to a fresh tube, add the same volume of 70% ethanol and mixed well.



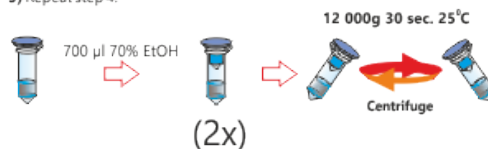
- 2) Add 600 µl of above aqueous solution to the column (the column should be placed in 2 mL collection tube). Centrifuge the column for 30 seconds at 12 000 × g. Discard the filtrate and use the same collection tube again.



- 3) Filter rest of the aqueous phase solution as in point 2.

- 4) Add 700 µl 70% ethanol to the column and centrifuge the column for 30 seconds at 12 000 × g. Discard the filtrate and use the same collection tube again.

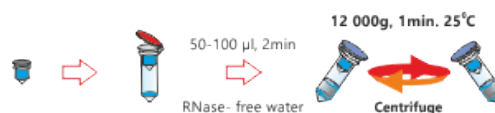
- 5) Repeat step 4.



- 6) Centrifuge the column for 1 minute at the highest centrifuge speed.



- 7) Discard previously used collection tube along with filtrate. Place the column in a new RNase-free 1.5 mL microcentrifuge tube and add 50-100 µl RNase-free water. Incubate at room temperature for 2 minutes and centrifuge the column for 1 minute at 12 000 × g.



- 8) Discard the column. The collection tube contains RNA solution which can be used directly for experiments or stored at -70 °C. Measure of the RNA concentration.

