

UŽIVATELSKÁ PŘÍRUČKA

Izolace virové RNA s použitím viRNAtrap™ odběrového a transportního media

| POPIS

ViRNAtrap je odběrové a transportní medium, které vzorek okamžitě inaktivuje a stabilizuje RNA při pokojové teplotě po dobu několika dní. ViRNAtrap odběrové a transportní medium bylo testováno a úspěšně používáno s mnoha typy syntetických i bavlněných odběrových štětiček. ViRNAtrap odběrové a transportní medium je kompatibilní se standardními manuálními i automatizovanými izolačními protokoly s minimální manipulací se vzorky, čímž je zároveň minimalizována i možnost případného přenosu infekce v době před analýzou. Zároveň zkracuje čas vlastní analýzy.

Celková RNA je izolována přímo z viRNAtrap odběrového a transportního media s použitím magnetických kuliček přítomných v lyzačním pufru. Izolace RNA může být prováděna jak manuálně, tak i automatizovanými metodami s vysokou propustností pomocí robotických pipetovacích stanic.

Izolovaná RNA může být následně použita pro testování metodou RT-qPCR v jedné zkumavce, kdy je výsledek znám do 2 hodin.

Izolovaná RNA je dále vhodná pro použití při dalších analytických metodách jako je RNA sekvenování, RT-PCR, transkripční profilování, hybridizace atd.

| PARAMETRY

- ViRNAtrap okamžitě inhibuje aktivitu RNáz a inaktivuje viry a jiná infekční agens.
- Vazebná kapacita magnetických kuliček: až 10 µg RNA při použití 300 µl viRNAtrap lysis buffer s magnetickými kuličkami.
- Objem eluovaného vzorku: ≥50 µl.

| SLOŽENÍ KITU A SKLADOVÁNÍ

30 ml viRNAtrap Lysis Buffer s magnetickými kuličkami

12 ml Wash Buffer 1 (koncentrát)

3 ml Wash Buffer 2 (koncentrát)

15 ml Elution Buffer

Veškeré reagenty obsažené v kitu jsou stabilní při skladování při laboratorní teplotě (22–25 °C). Roztok viRNAtrap Lysis Buffer s magnetickými kuličkami před použitím vždy řádně promíchejte.

| BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Před použitím kitu si pozorně přečtete příložený manuál. Při práci noste laboratorní plášť a používejte ochranné rukavice. Dbejte bezpečnostních pokynů uvedených v SDS listech.

| DALŠÍ POTŘEBNÉ REAGENCIE A VYBAVENÍ PRO MANUÁLNÍ IZOLACI

- 100 % isopropanol p.a. (85 ml na 100 izolací)
- 1,5 ml zkumavky pro lyzační a eluční krok
- nastavitelné automatické pipety (10–1000 µl)
- jednorázové sterilní pipetovací špičky s filtrem
- magnetický stojánek na 1,5 ml zkumavky
- ochranné pomůcky (laboratorní oděv, ochranné rukavice a brýle)
- centrifuga na 1,5 ml zkumavky

| PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Před zahájením práce s izolačním kitem je nutné si připravit následující reagenty:

Wash Buffer 1: Před prvním použitím přidejte do Wash Buffer 1 (koncentrátu) 18 ml čistého isopropanolu. Připravený roztok promíchejte a na lahvičce označte, že byl přidán isopropanol.

Wash Buffer 2: Před prvním použitím přidejte do Wash Buffer 2 (koncentrátu) 27 ml čistého isopropanolu. Připravený roztok promíchejte a na lahvičce označte, že byl přidán isopropanol.

Roztoky jsou stabilní minimálně 1 rok při laboratorní teplotě.

| PROTOKOL PRO MANUÁLNÍ IZOLACI

1. Přepipetujte 100 µl viRNAtrap transportního media se vzorkem do čisté 1,5 ml zkumavky.
2. Přidejte 300 µl roztoku viRNAtrap Lysis Buffer s magnetickými kuličkami
Upozornění: roztok **viRNAtrap lysis buffer s magnetickými kuličkami** je nutné vždy důkladně protřepat.
3. Přidejte 400 µl čistého isopropanolu a dobře promíchejte propipetováním nebo vortexováním.
4. Inkubujte 3 minuty při pokojové teplotě.
5. Vzorek ve zkumavce přeneste na magnetický stojánek a počkejte, až se roztok vyčeří (asi 2 minuty).
6. Odpipetujte supernatant.
7. Vzorek ve zkumavce ponechte na magnetickém stojánku a přidejte 250 µl Wash Buffer 1.
8. Nechte působit 20 s a poté odpipetujte.
9. Přidejte 250 µl Wash Buffer 2, nechte působit 20 s a poté odpipetujte.
10. Vzorek ve zkumavce krátce centrifugujte, vraťte na magnetický stojánek a odsajte zbytek supernatantu.
11. Nechte kuličky oschnout (2 minuty).
12. Zkumavku se vzorkem vyndejte z magnetického stojánku, přidejte 50 µl Elution Buffer a důkladně promíchejte (vortexováním či propipetováním).
13. Inkubujte 2 minuty, poté vzorek přeneste zpět na magnetický stojánek a počkejte, až se roztok vyčeří (asi 2 minuty).
14. Supernatant obsahující RNA přeneste do čisté zkumavky.

Získanou RNA je možné okamžitě použít nebo ji uschovat pro další použití při teplotě -80° C.

| AUTOMATIZACE

Protokol izolace pomocí viRNAtrap je kompatibilní s mnoha robotickými pipetovacími stanicemi. V případě zájmu kontaktujte výrobce.



GeneSpector s.r.o.
Petrská 1180/3, Nové Město, 110 00 Praha 1

info@genespector.com
www.genespector.com