



## **FBNA-Реагент**

для выделения нуклеиновых  
кислот из биологического  
материала



# Содержание

Описание .....	4
Ограничения на использование продукта .....	4
Гарантия .....	4
Техника безопасности.....	4
Принцип действия.....	5
Необходимое оборудование и материалы .....	5
Важные замечания .....	5
Протокол выделения.....	6
Проблемы и рекомендации .....	7
Контроль качества.....	8
Условия и срок хранения .....	8
Служба технической поддержки .....	8
Информация для заказов .....	8
Паспорт безопасности вещества.....	9

## **Описание**

FBNA-реагент предназначен для выделения пула тотальных нуклеиновых кислот (НК) из тканей и клеток животных, растений, бактерий, дрожжей, а также вирусных частиц, менее чем за 1 час. Выделение можно проводить как из малых (50-100 мг ткани,  $5-10 \times 10^6$  клеток), так и из больших количеств материала ( $\geq 1$  г ткани,  $>10 \times 10^7$  клеток). После выделения ДНК может сразу быть использована для последующих анализов.

## **Ограничения на использование продукта**

FBNA-реагент разработан и продается исключительно в научных целях. Набор не может быть использован в медицинских или в лечебных целях.

## **Гарантия**

Фрактал Био гарантирует изготовление всех продуктов согласно описанию в руководстве. Покупатель должен определить соответствие продукта для конкретного его использования. Если продукт не дает заявленного результата по любой причине, за исключением неправильного использования, мы бесплатно произведем замену продукта или вернем покупателю его полную стоимость. Мы сохраняем за собой право изменять или модифицировать любой продукт в целях улучшения его качеств и дизайна. Если у Вас возникли вопросы по применению продукта или оценке результата, Вы можете обращаться в Службу технической поддержки (см. на обороте).

## **Техника безопасности**

При работе с FBNA-реагентом необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981).

FBNA-реагент содержит ядовитое вещество (фенол) и раздражитель (гуанидин тиоционат). Контакт FBNA-реагента с кожей может вызывать ожоги. Необходимо соблюдать осторожность и быть внимательным при обращении с данным реагентом. При работе с FBNA-реагентом всегда используйте верхнюю лабораторную одежду, одноразовые перчатки и

защитные очки. Полную информацию о рисках и предостережениях можно найти в паспорте безопасности вещества.

## **Принцип действия**

FBNA-реагент состоит из монофазного раствора фенола и гуанидин тиоционата. При гомогенизации или лизисе пробы, FBNA-реагент сохраняет целостность НК, разрушая клетки и клеточные компоненты. После добавления хлороформа и центрифугирования, смесь разделяется на 2 фазы: водная фаза содержит ДНК и РНК, органическая фаза содержит белок. После переноса водной фазы, НК осаждаются изопропанолом и промываются этанолом.

## **Необходимое оборудование и материалы**

Организация работы лаборатории должна соответствовать методическому указанию МУ 1.3.2569-09.

Для работы необходимы следующие оборудование и материалы:

- Микроцентрифуга
- Этанол (75%)
- Хлороформ
- Изопропанол
- Пластиковые микропробирки объёмом 1.5 мл
- Дистиллированная вода
- Одноразовые перчатки и халат

## **Важные замечания**

Прочтите внимательно данный раздел до начала выполнения работ.

- Центрифугирование в каждом шаге выделения осуществляется в стандартной настольной микроцентрифуге
- При работе с НК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку, “DNase-free”, “RNase-free” .
- Для приготовления смесей и добавления нуклеиновых кислот используйте только наконечники с фильтрами.
- Работать только в одноразовых перчатках.
- Всё лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, лабораторная посуда, а также все рабочие растворы, должны быть строго стационарными.

- Выделение НК необходимо проводить в ламинарном боксе.
- Рекомендуется проводить **отрицательный контроль** – выделение из воды, и использовать его при последующей проверке выделения.

## Протокол выделения

1. Гомогенизируйте пробу

**Ткань:** гомогенизируйте пробу ткани в FBNA-реагенте (из расчёта 1 мл FBNA-реагента на 50-100 мг ткани). Объём ткани не должен превышать 10% от объёма FBNA-реагента.

**Монослой клеток:** лизируйте клетки непосредственно в чашке, в которой росли клетки. Используйте 1 мл FBNA-реагента на каждые 10 см<sup>2</sup> поверхности чашки. Суспендируйте клетки.

**Важно!** FBNA-реагент не совместим с пластиковыми чашками. Используйте только стеклянные чашки.

**Суспензия клеток:** осадите клетки центрифугированием и добавьте к клеткам FBNA-реагента (из расчёта 1 мл FBNA-реагента на 5-10 x 10<sup>6</sup> клеток животных, растений, дрожжей или 10<sup>7</sup> клеток бактерий). Ресуспендируйте клетки.

**Кровь:** к 150 мкл крови добавьте 850 мкл FBNA-реагента. Тщательно перемешайте.

2. Инкубируйте гомогенизированную пробу 5 минут при комнатной температуре.

**Важно!** Если в образцах высокое содержание жиров, белков, полисахаридов или внеклеточного материала, то необходимо провести дополнительный этап. После инкубации, центрифугируйте образцы 10 минут при 12.000 x g. Перенесите супернатант в чистую микропробирку и переходите к пункту 3.

3. Добавьте хлороформ из расчёта 200 мкл хлороформа на каждый миллилитр FBNA-реагента добавленного в пункте 1. Тщательно перемешайте.

**Важно!** Хлороформ не должен содержать изоамилового спирта или других добавок.

4. Инкубируйте смесь 5-15 минут при комнатной температуре.

5. Центрифугируйте смесь 10 минут при 12.000 x g. После центрифугирования смесь будет разбита на две фазы: нижняя органическая фаза (содержит белки), верхняя водная фаза (содержит ДНК и РНК).

6. Перенесите водную фазу в чистую микропробирку.
7. Добавьте изопропанол из расчёта 500 мкл изопропанола на каждый миллилитр FBNA-реagenta добавленного в пункте 1 Подготовка пробы. Тщательно перемешайте.
8. Инкубируйте смесь 5-10 минут при комнатной температуре.
9. Центрифугируйте смесь 10 минут при 12.000 x g.
10. Удалите супернатант. К осадку добавьте 75%-ый этанол из расчёта 1 мл этанола на каждый миллилитр FBNA-реagenta, добавленного в пункте 1 Подготовка пробы. Тщательно перемешайте.
11. Центрифугируйте смесь 5 минут при 7.500 x g.
12. Удалите супернатант. Осадок НК подсушите – оставьте на 5-10 минут микропробирку открытой на воздухе или под вакуумом. Не следует высушивать НК полностью, так как это существенно снизит её растворимость. Также не следует использовать для просушки центрифугирование под вакуумом (Speed-Vac).
13. Добавьте к осадку НК необходимое количество воды. Для лучшего растворения рекомендуется оставить микропробирку на 10-15 минут при 55-60 °С.

## Проблемы и рекомендации

Проблема	Возможная причина	Решение
А. Малое количество выделяемой НК	Неполная гомогенизация или лизис проб.	Увеличьте объём FBNA-реagenta в 1,5 раза и время инкубации.
	Конечный осадок НК растворен не полностью.	Прогрейте пробу 10–15 минут при 55–60 °С, затем тщательно ресуспендируйте
В. Присутствует деградация ДНК	Ткани/клетки хранились при комнатной температуре	Следите, чтобы ткани/клетки хранились при -20 °С
С. Присутствует деградация РНК	Ткани/клетки не были сразу использованы или не были заморожены после взятия образцов.	Следите, чтобы ткани/клетки хранились при -70 °С и использовались сразу после разморозки.

## **Контроль качества**

Набор тестируется выделением НК из биологической жидкости в соответствии с протоколом, описанным выше. Качество выделяемой НК оценивается проведением электрофореза в агарозном геле.

## **Условия и срок хранения**

FBNA-реагент может храниться до 12 месяцев без изменения качественных характеристик при температуре 2-8 °С.

## **Служба технической поддержки**

В случае появления вопросов обращайтесь в службу технической поддержки: [technic@fractalbio.com](mailto:technic@fractalbio.com).

## **Информация для заказов**

Наименование	Кат.номер
FBNA-реагент, 100 мл	НК-4



## Паспорт безопасности вещества

### Символы факторов риска:



**Сигнальное слово: ОПАСНО!**

### Характеристика опасности:

**H301** – Токсично при проглатывании

**H311** – Токсично при контакте с кожей

**H314** – Вызывает серьёзные ожоги кожи и повреждения глаз

**H330** – Опасен при вдыхании

**H341** – Предположительно вызывает генетические дефекты

**H373** – Может наносить вред органам в результате длительного или многократного воздействия

**H412** – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями

### Предупреждения:

Предотвращение

**P260** – Избегать вдыхания пыли

**P273** - Избегать попадания в окружающую среду.

**P280** – Использовать защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / лица.

**P284** – Использовать защиту органов дыхания

Реагирование

**P301+P310** – При проглатывании: немедленно обратиться в токсикологический центр или доктору/терапевту.

**P305+P351+P338** – При попадании в глаза: Осторожно промыть глаза водой. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и это легко сделать. Продолжить промывание глаз.

**Дополнительная маркировка:** При контакте с кислотами образуется очень токсичный газ.

**Код опасности:** Т – токсично

### Факторы риска (R):

**23/24/25** – Токсично при вдыхании, при контакте с кожей, при проглатывании

**32** – При контакте с кислотами образуется очень токсичный газ

**34** – Вызывает ожоги

**48/21/22/23** – Причиняет серьёзный ущерб здоровью при продолжительном вдыхании, контакте с кожей, проглатывании.

**52/53** – Вредно для водных организмов, может вызывать долгосрочное опасное воздействие на водную среду.

**68** – Возможный риск необратимых последствий.

**Меры безопасности (S):**

**26** – В случае попадая в глаза: промыть глаза с большим количеством воды и обратиться к врачу.

**36/37/39** – Использовать соответствующую защитную одежду, перчатки и защиту глаз / лица.

**45** – При несчастном случае или если вы чувствуете недомогание, немедленно обратиться к врачу (показать этикетку).

**61** – Избегать попадания в окружающую среду. См. специальные паспорта безопасности инструкции

**Температура воспламенения** – 78 °C

Произведено: ООО “Фрактал Био”, 190020, г. Санкт-Петербург,  
ул. Бумажная, д. 17  
сайт: [fractalbio.com](http://fractalbio.com)  
E-mail: [info@fractalbio.com](mailto:info@fractalbio.com)  
Контактный телефон/факс: (812) 495-96-95

Дата изготовления: 28.10.16