

RNA KEEPER**Código: 14-0002-01 - 100mL****Ficha de Instrução de Uso****1. Descrição**

O *RNA Keeper* é um reagente aquoso para conservação de tecidos, é atóxico e penetra rapidamente nos tecidos para estabilizar e proteger, *in situ*, o RNA celular das amostras frescas. As amostras dos tecidos para conservação devem ser colocadas no *RNA Keeper* imediatamente após a sua obtenção, isto irá garantir a qualidade do RNA a ser purificado.

O *RNA Keeper* elimina a necessidade de processar os tecidos imediatamente, ou seu congelamento em gelo seco para posterior processamento.

O *RNA Keeper* preserva, em geral, o RNA dos tecidos por até 1 dia em 37°C, 1 semana em 25°C e até um mês em 4°C. Os tecidos podem ainda ser armazenados em -20°C ou -80°C por um longo período de tempo.

O *RNA Keeper* vem sendo testado; com sucesso, em diversos tecidos de espécies de vertebrados, a saber, cérebro, coração, rins, baço, fígado, testículos, músculo esquelético, gordura, pulmões e timus. *RNA Keeper* é também eficiente para *E. coli*, *Drosophila*, cultivo celular de tecidos, células sanguíneas da série brancas e alguns vegetais e leveduras. O *RNA Keeper* é compatível com a maioria de métodos de extração de RNA, incluindo o Brazol e diversos kits de extração de RNA, comercialmente disponíveis.

2. Precauções e Cuidados

Este produto é para uso exclusivo em pesquisa, não é indicado como medicamento, nem pode servir para uso doméstico.

3. Armazenamento e Estabilidade

Armazenar o *RNA Keeper* em temperatura ambiente. Em caso de precipitação é possível aquecer a solução em 37°C, agitando para redissolver e deixar a solução translúcida.

4. Utilização

Utilizar o *RNA Keeper* somente com tecidos frescos. Não congelar os tecidos antes de fazer a imersão no *RNA Keeper*.

A. Preparação das amostras de tecidos.**1. Tecido animal**

Amostras de tecidos devem ser picotadas nas dimensões aproximadas de 0,5 cm (p.e. 0,5 cm x 1 x 1 cm). Estas amostras devem ser colocadas em 5 volumes de *RNA Keeper* e armazenar como indicado na seção B, a seguir. O reagente não dissolve ou rompe os tecidos nele submersos. Órgãos pequenos, como p.e. fígado de rato, rins, e baço podem ser armazenados completamente no *RNA Keeper*.

2. Tecido vegetal

Os tecidos vegetais podem ser diretamente submersos em 5 volumes de *RNA Keeper* para sua conservação. Tecidos mais resistentes devem ser previamente submetidos a métodos mecânicos para ruptura.

3. Cultivos celulares

Preparar um "pellet" com as células em cultivo, de acordo com procedimentos padrão pré-estabelecidos. Lavar as células com solução de PBS ou equivalente para retirar algum resíduo de meio de cultivo.

Ressuspender as células em volume pequeno de PBS para levemente reidratar as células e adicionar então 5-10 volumes de *RNA Keeper* para as células em suspensão. Muitas vezes não é necessário enxaguar repetidas vezes as células.

4. Células sanguíneas brancas

As células sanguíneas brancas podem ser recuperadas através de protocolos de separação utilizando diversos reagentes, entre os quais o Ficoll-Hypaque e proceder no armazenamento como nos cultivos celulares. O *RNA Keeper* não é recomendado para a conservação do sangue total, plasma ou soro,

pois, por causa do elevado conteúdo protéico estes fluidos poder formar um precipitado insolúvel se misturados com o *RNA Keeper*

5. Bactérias

O *RNA Keeper* é um poderoso bacteriostático, isto significa que as bactérias não crescem nesta solução, porém se mantém intactas. As células de *E.coli* armazenadas em *RNA Keeper* por um mês entre 2°C - 8°C ficam intactas e mantém seu RNA preservado.

6. Fungos e leveduras

Preparar o *pellet* de até 3×10^8 células (centrifugar em 12.000xg por 2min). Retirar o sobrenadante e imediatamente ressuspender o *pellet* em 0,5–1 mL de Solução *RNA Keeper*. As células de leveduras e fungos podem ser armazenadas na Solução *RNA Keeper* por até 8 horas em 25°C ou até uma semana em 4°C. Já para armazenamento de longo prazo, incubar as células na Solução *RNA Keeper* durante 1 hora. Retirar as células (centrifugar em >12.000xg por 5min), remover o sobrenadante, congelar rapidamente e armazenar imediatamente em -80 °C.

B. Armazenamento das amostras em *RNA Keeper*

1. Armazenamento em -80°C (recomendado para armazenamento por longo período de tempo). Incubar as amostras entre 2-8°C durante a noite, no outro dia remover o tecido da solução, antes de armazenar a -80°C, para prevenir a formação de cristais de sal. Para células de cultivo de tecidos, não remover o *RNA Keeper*, simplesmente congelar a solução completa.
2. Armazenamento das amostras em -20°C (outra opção para armazenamento durante longo período de tempo) Incubar as amostras entre 2-8°C durante a noite, logo no outro dia, transferir para -20°C. Embora alguns cristais se formem no tampão de armazenamento, isto não afetará o isolamento do RNA que será posteriormente realizado. Se os cristais são um problema, recomenda-se remover o *RNA Keeper* antes de armazenar as amostras em -20°C. as amostras podem ser subsequentemente congeladas e descongeladas sem afetar a qualidade do RNA a ser extraído.
3. Armazenamento entre 2-8°C. As amostras podem ser armazenadas entre 2-8°C por até um mês sem evidência experimental de degradação do RNA.
4. Armazenamento em temperatura ambiente (25°C). O RNA isolado de amostras armazenadas em 25°C por uma semana fica intacto, já o RNA armazenado por duas semanas em 25°C aparece levemente degradado, assim para alguns ensaios se torna inviável. É possível manter em gelo as amostras em *RNA Keeper* por umas quantas horas antes de armazenar em temperatura ambiente.
5. Armazenamento em 37°C. O RNA isolado de amostras armazenadas em 37°C aparece intacto por até 24 horas após a incubação, mas parcialmente degradada após o terceiro dia de incubação.

C. Isolamento de RNA em tecidos conservados em *RNA Keeper*

Os tecidos armazenados no *RNA Keeper* devem ser removidos da solução com pinças estéreis e submersos na solução de lise correspondente. A homogeneização dos tecidos deve ser rápida.

As células armazenadas em *RNA Keeper* podem ser removidas por centrifugação retirando o sobrenadante; ou diretamente submetidas ao processo de extração considerando uma solução de células/*RNA Keeper*.

Centrifugação: como o *RNA Keeper* tem densidade maior em comparação com os meios de cultivo de células, se recomenda conhecer a velocidade de centrifugação para cada tipo celular, para *HeLa* p.e. se recomenda 3.000 g.

Para extração com reagente a base de fenol (Brazol p.e.) se recomenda adicionar 10 volumes do reagente para extração e prosseguir como indicado no protocolo.

5. Armazenamento:

Entre 4°C e 30°C

6. Garantia da Qualidade:

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto por **RNA KEEPER** ela fornecido contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da

proposta.

- A garantia abrange defeitos de produção.
Exceções na garantia:
- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.
- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

7. Informações do Fabricante:

NOVA BIOTECNOLOGIA LTDA

R. PASADENA, 235 - PARQUE INDUSTRIAL SAN JOSE

CEP: 06.715-864 - COTIA/SP - BRASIL

CNPJ: 24.096.423/0001-15

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA - CRBM 20951

8. Atendimento ao Consumidor

Tel. +55 (11) 4243-2356 www.novabiotechologia.com.br

e-mail: assessoria@novabiotechologia.com.br sac@novabiotechologia.com.br