

**RNA KEEPER**

**Código N°:**

**14-0002-01: 100 mL**

**Armazenamento: 10-30°C**

**Descrição do Produto:**

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 o RNA nos 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 por 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. O *RNA Keeper* é compatível com a maioria de métodos de extração de RNA, incluindo o Brazol (LGC Biotecnologia) e diversos kits de extração de RNA, comercialmente disponíveis.

**Precauções e cuidados:**

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

**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.

**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 re-hidratar 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 SepCell (LGC) 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* es um poderoso bacteriostático, isto significa que as

bactérias não crescem nesta solução, porém se mantêm intactas. As células de *E.coli* armazenadas em *RNA Keeper* por um mês entre 2-8°C ficam intactas e mantêm seu RNA preservado.

**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***

1. 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.
2. 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*.
3. 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.
4. 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.