

50. Cuidados necessários para se trabalhar com RNA

- RNases são potentes enzimas que degradam o RNA, elas estão presentes em quase todos os lugares como poeira, sujeira, bactérias, fungos, superfícies corporal (mãos, barba e cabelo), etc.
- Sempre use luvas para manusear os reagentes e equipamentos utilizados para a extração de RNA.
- Sempre mantenha os reagentes fechados, livres de sujeira e possíveis contaminações.
- Mantenha as amostras em gelo sempre que estiver manipulando RNA, isso evitará a degradação.
- Esterilize todo o tipo de material plástico e vidraria que será utilizada no procedimento de extração.

MATERIAL PLÁSTICO NÃO DESCARTÁVEL: A lavagem do material plástico não descartável deve ser feita da seguinte maneira (estantes para tubos, pipetadores...)

- Lave com 100mM NaOH,
- Lave com 1mM EDTA,
- Lave com água + DEPC,

VIDRARIA: A vidraria (pipetas) utilizada para extração de RNA deve ser lavada com detergente neutro, enxaguada várias vezes com água destilada e esterilizada no forno por no mínimo de 2 horas. Alternativamente, pode-se fazer uma lavagem com 0,1% de DEPC antes de esterilizar no forno. Dissolva 0,1% de DEPC na água, incube durante a noite à temperatura ambiente (ou à 37°C durante 1 hora) e esterilize no forno.

EQUIPAMENTOS E BANCADAS: Para limpeza de equipamentos e bancadas em geral aconselha-se:

- Lavar com uma solução de hipoclorito sódio (250mL de hipoclorito de sódio 2% + 750 mL de água),
- Lavar álcool 70%,
- Lavar com uma solução de 0.5% SDS.

OBS.: Uma alternativa é o uso da solução de **RNAzap** para fazer a limpeza dos equipamentos e bancadas (Life Technologies)

MATERIAL DESCARTÁVEL: O material descartável (microtubos e ponteiros) utilizado na extração de RNA de ser lavado da seguinte maneira: deixe o material de molho em uma solução de 0,1% DEPC em água destilada (sem autoclavar) e incube durante a noite à temperatura ambiente (ou 1 hora à 37°C). Retire a água e coloque para secar na estufa, utilize uma bandeja com papel novo e limpo (utilize luvas), após secar embale para ser esterilizado na autoclave. Após o ciclo de esterilização, sempre utilize luvas para tocar o material.

ÁGUA DEPC: para a sua preparação dissolva 0,1% de DEPC em água (1mL de DEPC para cada 1 litro de água), incube overnight à temperatura ambiente (ou 1 hora à 37°C) ambiente e autoclave durante 15 minutos.

SOLUÇÕES: (5mM NaOH) Soluções devem ser preparadas adicionado-se 0.1% DEPC e autoclavadas para remover resíduos de DEPC. Para o preparado de álcool 75%, utilize a água já tratada com DEPC. Para remover o material, que será utilizado no processo de extração, do forno ou autoclave é indispensável a utilização de luvas (não há a necessidade de autoclavar).

*DEPC é carcinogênico. Sempre autoclave as soluções, materiais ou equipamentos que estiverem em contato com DEPC, pois isso irá inativá-lo.

*Armazene RNA em tubos livre de RNase (limpos e esterilizados) e à -70°C. Nunca a 4°C.

*Aliquote o RNA extraído em pelo menos dois tubos, isso gera uma tubo de segurança.