

NeXPUREZOL PLANT

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-112

Armazenamento: 15° a 30°C

Descrição:

O NeXPUREZOL PLANT é um reagente pronto para uso, formulado para o isolamento de RNA total a partir de tecidos vegetais ricos em polissacarídeos e/ou polifenóis, incluindo *Agaricus bisporus* (cogumelo-de-paris), polpa de banana, polpa de manga, tubérculo de batata, raiz de cenoura e folhas de *Sansevieria trifasciata* (espada-de-são-jorge). O produto emprega uma metodologia modificada baseada em CTAB (brometo de cetiltrimethylamônio) para a lise celular, associada à partição por fenol/clorofórmio para a desproteinização e eliminação de demais contaminantes. Adicionalmente, o reagente é adequado para a extração de RNA total a partir de espécimes animais complexos, tais como tecidos adiposos e conjuntivos.

Destaques:

- Eficiência otimizada de lise e elevado rendimento de RNA: Apresenta alta capacidade de ruptura celular e tecidual, resultando em maior concentração de RNA recuperado.
- Protocolo de extração rápida: O procedimento cinético de isolamento é concluído em um período inferior a uma hora.
- Visualização e controle de fase: A solução possui coloração rósea crômica, o que otimiza a discriminação visual e a separação mecânica entre as fases aquosa e orgânica.
- Elevado grau de pureza: Níveis mínimos de contaminação por DNA genômico residual e proteínas co-extraídas.
- Solução de Solubilização de RNA inclusa: Formulação que favorece a estabilização e preservação da integridade do RNA, mitigando o efeito de potenciais inibidores em ensaios subsequentes de transcrição reversa (RT).

Conteúdo do kit:

Componente	Volume
Buffer TP I	100ml
Buffer TP II	100ml
RNA Dissolving Solution	15ml

Procedimentos:

Reagentes requeridos e não fornecidos: Clorofórmio, isopropanol e etanol 75% (preparado em água livre de RNases). Todas as etapas de centrifugação devem ser executadas sob refrigeração de 2-8°C.

1. Pulverizar completamente os tecidos vegetais em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó homogêneo. Adicionar a solução TP I ao tecido homogeneizado (adicionar 1ml do Buffer TP I para cada 80-100mg de tecido) . Homogeneizar vigorosamente por ressuspensão com pipeta ou agitação em vórtex por diversas vezes. Transferir o lisado integral para um microtubo de centrifugação livre de RNases.
2. Centrifugar o lisado a 12.000xg por 5 minutos.
3. Transferir o sobrenadante (o qual pode apresentar leve turbidez) e aliquotá-lo em dois microtubos de centrifugação (aproximadamente 400-500µl por tubo).
4. Adicionar volume equivalente de cada tubo da solução TP II (rosa) nos respectivos tubos. Homogeneizar por inversão repetida. Adicionar clorofórmio em volume equivalente a 1/4 do volume do sobrenadante obtido na etapa 3 (aproximadamente 100-125µl) em cada tubo e homogeneizar novamente por inversão. Incubar a amostra em temperatura ambiente por 5 minutos.
5. Centrifugar a 12.000xg 5 minutos. O sistema bifásico se segmentará em três frações distintas: a fase superior aquosa (incolor), a interfase (aspecto oleoso, transparente, correspondente a cerca de 50µl e a fase orgânica inferior (rósea). O RNA encontra-se retido na fase aquosa superior.
6. Transferir cuidadosamente o sobrenadante incolor de ambos os tubos para um novo microtubo de 1,5ml livre de RNases. *(Nota: Devido à difícil discriminação visual entre a fase aquosa e a interfase, recomenda-se reter de 50-100µl da solução incolor no tubo original para mitigar riscos de contaminação. O volume final recuperado do sobrenadante deve ser de aproximadamente 400-500µl.*
7. Adicionar volume equivalente de isopropanol ao sobrenadante transferido. Homogeneizar por inversão e incubar em temperatura ambiente por 10 minutos.
8. Centrifugar a 12.000xg por 10 minutos. Descartar o sobrenadante por decantação. O precipitado de RNA (pellet esbranquiçado) será visível na parede lateral e no fundo do tubo.

9. Adicionar 1ml de etanol 75% (preparado em água livre de RNases) e homogeneizar vigorosamente em vórtex. *(Nota: adicional 1ml do etanol 75% em 1ml da Solução TPI usada).*
10. Centrifugar a 10.000xg por 5 minutos. Descartar o sobrenadante, assegurando a remoção completa dos resíduos de etanol. Secar o pellet ao ar, em temperatura ambiente, por aproximadamente 5 minutos.
11. Solubilizar o pellet em 30-40µl da Solução RNA Dissolving.
12. Para o armazenamento a longo prazo, conservar o RNA purificado sob congelamento a -80°C.

Nota:

- Prevenção contra Contaminações: Certifique-se de que todos os reagentes orgânicos utilizados (e.g., clorofórmio, isopropanol, etanol 75%) e os materiais de consumo (tais como microtubos de centrifugação e ponteiros de pipeta) sejam certificados como livres de RNases (RNase-free).

- Especificidade do Reagente: Este produto não é indicado para a extração de RNA total a partir de espécimes vegetais convencionais (com baixos teores de polifenóis e polissacarídeos). Para tecidos vegetais padrões, recomenda-se a utilização do NexpureZol UP.

Apenas para uso em pesquisa, não para diagnóstico clínico.

Contatos:

- **Website:** www.genexplore.com.br
- **E-mail:** suporte@genexplore.com.br
- **Importado por:** Genexplore, Comércio, Importação e Exportação Ltda
CNPJ: 62.359.822/0001-10 / I.E: 155.425.101.110
Av: Primeiro de Maio 379 – sala 04 – Ribeirão Preto – SP – 14030-390