

UNIVERSAL PLANT TOTAL RNA KIT

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-502

Armazenamento: Dnase I: -20°C. Demais componentes do kit : ambiente

Descrição:

O kit é destinado ao isolamento de RNA total a partir de diversas matrizes vegetais, tanto frescas quanto desidratadas, incluindo tecidos recalcitrantes caracterizados por altas concentrações de polissacarídeos e polifenóis. O método baseia-se em um sistema de extração exclusivo combinado com tecnologia de membrana de sílica para a remoção seletiva de metabólitos secundários — como polissacarídeos, compostos fenólicos e lipídios —, dispensando o uso de reagentes orgânicos tóxicos como fenol e clorofórmio. O RNA purificado apresenta elevada integridade, pureza e estabilidade, sendo adequado para aplicações moleculares subsequentes, tais como RT-PCR, qRT-PCR, *Northern blot*, RACE e construção de bibliotecas de sequenciamento.

Características Principais

- **Ampla Aplicabilidade:** Otimizado para diversos tecidos vegetais, especialmente espécimes complexos com elevado teor de amido, polifenóis ou polissacarídeos.
- **Processamento Rápido:** Obtenção de RNA genômico de alta qualidade em menos de 30 minutos.
- **Alta Segurança e Baixa Toxicidade:** Protocolo livre de solventes orgânicos nocivos, como fenol, clorofórmio ou β -mercaptoetanol.
- **Elevada Pureza:** O sistema de purificação remove eficientemente contaminantes e interferentes endógenos, incluindo pigmentos, polifenóis e polissacarídeos.

Conteúdo do kit:

Componente	Volumes
Tampão de Lise	40ml
Tampão de Precipitação	10ml
DNase I (3 units/gl) – manter a -20°C	1500U
DNase I Buffer	4x1ml
Tampão de Limpeza	20ml
Tampão de Lavagem	12ml
Água RNase-free	10ml
Colunas de Filtração e Tubos de Coleta	50 unid.
Colunas RNAspin e Tubos de Coleta	50 unid.

Reagentes Requeridos:

- isopropanol absoluto

Procedimentos:

Antes de iniciar o procedimento, adicionar aos Tampões abaixo os volumes de Etanol Absoluto

Componente	Volume
Tampão de Limpeza	20ml
Tampão de Lavagem	48ml

1. Pese aproximadamente 100 mg de tecido vegetal fresco ou 30 mg de tecido liofilizado/seco, previamente pulverizado em nitrogênio líquido, e transfira para um tubo de microcentrifuga estéril de 1,5 mL.
 - *Para espécimes com elevado teor hídrico (e.g., frutos como maçãs e tomates), a massa inicial do tecido pode ser ajustada proporcionalmente.*
2. Adicione 700 µL de Tampão de Lise, homogenize completamente por inversão ou agitação mecânica e incube em banho-maria ou bloco térmico a 65 °C por 5 minutos.
3. Adicione 175 µL de Tampão de Precipitação e homogeneize completamente por inversão ou agitação mecânica. Centrifugue a $13.500 \times g$ por 3 minutos. Transfira integralmente o sobrenadante para as Colunas de Filtração acopladas aos Tubos de Coleta (*Nota: a presença eventual de um precipitado residual ou impurezas no sobrenadante não compromete as etapas subsequentes de extração*). Centrifugue a $13.500 \times g$ por 2 minutos.
 - *Caso o lisado apresente alta viscosidade, adicione o Tampão de Precipitação e incube a amostra em banho de gelo por 5 minutos antes da centrifugação.*
4. Adicione 350 µL de isopropanol absoluto ao tubo de coleta contendo o filtrado e homogenize suavemente por inversão. Neste estágio, pode ocorrer a formação de um precipitado floculento.
5. Transfira a mistura total para a Coluna de RNAspin acoplada ao respectivo Tubo de Coleta, dividindo o volume em duas alíquotas sucessivas. Centrifugue a $13.500 \times g$ por 30 segundos e descarte o efluente (*flowthrough*).
6. Aplique 80 µL da solução de trabalho de DNase I diretamente no centro da membrana de sílica da coluna de spin e incube à temperatura ambiente por 10 minutos.
 - *Preparo da solução de trabalho de DNase I:* Em um tubo de microcentrifuga livre de RNase, adicione 70 µL do Tampão DNase I Buffer e 10 µL de DNase I; homogenize suavemente.
7. Adicione 500 µL de Tampão de Limpeza, centrifugue a $13.500 \times g$ por 30 segundos e descarte o efluente (*Certifique-se previamente de que o etanol absoluto foi adicionado ao tampão conforme instruções do fabricante*).

8. Adicione 500 µL de Tampão Lavagem, centrifugue a $13.500 \times g$ por 30 segundos e descarte o efluente (*Certifique-se previamente de que o etanol absoluto foi adicionado ao tampão*).
9. Repita a etapa de lavagem (etapa 8) uma única vez.
10. Centrifugue a $13.500 \times g$ por 2 minutos para assegurar a remoção completa do Tampão de Lavagem residual. Transfira a coluna de spin para um tubo de microcentrifuga estéril de 1,5 mL livre de RNase.
11. Aplique 50–100 µL de água livre de RNase no centro da membrana da coluna. Incube à temperatura ambiente por 2 minutos. Centrifugue a $13.500 \times g$ por 1 minuto para eluição do RNA purificado.
 - *Para otimização do rendimento total de RNA, repita o procedimento de eluição (etapa 11). Armazene as alíquotas de RNA a -80 °C (faixa aceitável: -85 °C a -65 °C).*
 -

Observações Técnicas e Notas de Procedimento

- **Integridade das amostras:** Utilizar tecidos frescos ou preservados adequadamente; evitar ciclos repetidos de congelamento e descongelamento para prevenir a degradação do RNA.
- **Massa de entrada:** Não exceder a quantidade recomendada de tecido vegetal. O excesso de biomassa aumenta a carga de impurezas e metabólitos secundários, podendo colmatar (entupir) as colunas de filtração e reduzir a eficiência da extração.
- **Controle de contaminação:** Empregar exclusivamente ponteiras com filtro e tubos estéreis, certificados como livres de RNase (*RNase-free*), adotando boas práticas laboratoriais para evitar a degradação enzimática do RNA.
- **Precipitação de reagentes:** Caso observe a formação de precipitados no Tampão de Lise, incube o frasco em banho-maria a 37 °C até a solubilização completa e homogenize bem antes do uso.
- **Reagentes e insumos não fornecidos no kit:** Isopropanol, etanol absoluto e tubos de microcentrifuga estéreis de 1,5 mL (livres de RNase).

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
- Rev 0.1 (julho/2026)