

# High-Q™ -Spin-Column Plant RNA Purification Kit

## Ordering info

TBK0278, 3 reactions (sample)

TBK0279, 20 reactions

TBK0280, 50 reactions

TBK0281, 100 reactions

## Description

High-Q™-Spin-Column Plant RNA Purification Kit is an easy silica-membrane-based system for RNA purification from a wide variety of plant species. An optimized lysis buffer guarantees a good yield while the use of High-Q™ RNA Spin Columns allows a good quality RNA, suitable for downstream applications.

## Features

- **Safety**, no phenol extraction, no ethanol precipitation.
- **High yield and purity** (A260/A280 ~2.0; A260/A230 ~2.0-2.2).
- **Isolated RNA is ready to use for downstream molecular biology applications.**
- **Easy and fast protocol.**

## Applications

- Purification of RNA from plant tissue, including plant cells, leaves, seeds, fruits, or roots.
- Purification of RNA plant using different starting plant materials: frozen, fresh, or dried.
- RNA obtained is suitable for downstream molecular biology applications such as RT-PCR, RT-qPCR, Northern, cDNA library, nuclease protection assay, *in vitro* translation, etc.

## Quality Control

RNA purified is checked by integrity (agarose gel electrophoresis), quantity and quality (A260/280 ~2.0).

## Kit Components

Components	TBK0279	TBK0280	TBK0281
High-Q™ RNA Spin Column with Collection Tubes	20	50	100
BPRNA-1 Buffer	15 mL <sup>a</sup>	35 mL <sup>a</sup>	60 mL <sup>a</sup>
BPRNA-2 Buffer	1.8 mL	2 x 1.8 mL	10 mL
DNase I (5 U/μL)	100 μL	250 μL	500 μL
10x DNase-I Buffer	1.5 mL	2 x 1.5 mL	10 mL
WRNA-1 Buffer	10 mL <sup>b</sup>	20 mL <sup>c</sup>	35 mL <sup>d</sup>
WRNA-2 Buffer	6 mL <sup>e</sup>	12 mL <sup>f</sup>	25 mL <sup>g</sup>
Water, nuclease free	5 mL	5 mL	10 mL

**Order Info Kit Components:** High-Q™ RNA Spin Columns (TBM0012) | BPRNA-1 Buffer (TBB0555) | BPRNA-2 Buffer (TBB0556) | DNase-I (TBZ0320) | 10x DNase Buffer (TBB0319) | WRNA-1 Buffer (TBB0544) | WRNA-2 Buffer (TBB0545) | Water, nuclease free (TBB0302).

**Components for samples are ready to use!**

### Before its use:

- <sup>a</sup> Add 10 μL β-mercaptoethanol per 1 mL BPRNA-1 Buffer.
- <sup>b</sup> Add 6 mL absolute ethanol and mix well.
- <sup>c</sup> Add 12 mL absolute ethanol and mix well.
- <sup>d</sup> Add 21 mL absolute ethanol and mix well.
- <sup>e</sup> Add 24 mL absolute ethanol and mix well.
- <sup>f</sup> Add 48 mL absolute ethanol and mix well.
- <sup>g</sup> Add 100 mL absolute ethanol and mix well.

## Storage

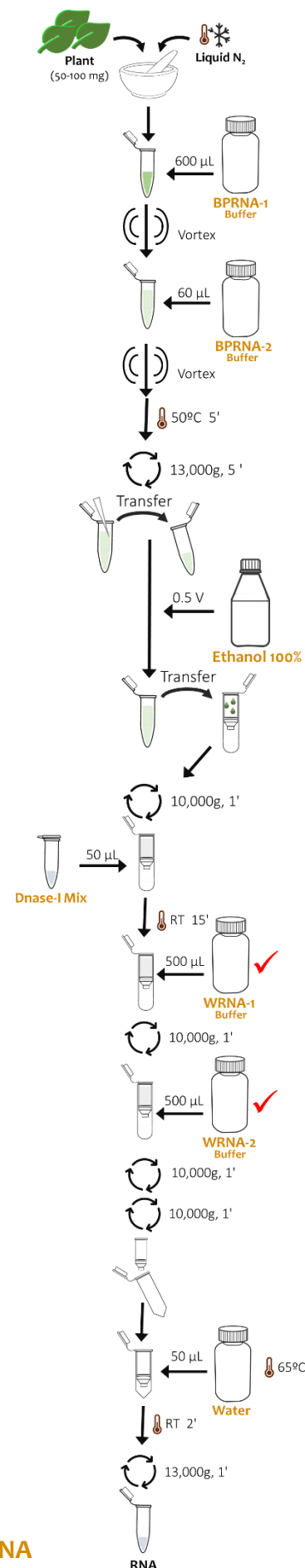
Store the kit at 25°C and DNase-I at -20°C.

## Material required (not supplied)

- 1.5 mL Microcentrifuge tubes (RNase free).
- Ethanol (CAS 64-17-5).
- β-mercaptoethanol (βME) (CAS 60-24-2)

## PROTOCOL

- Grind up to 100 mg of plant material in liquid nitrogen using a mortar and a pestle. With a freeze spatula, collect the powder into a frozen 1.5 mL tube.
- Add **600  $\mu$ L BPRNA-1 Buffer** and mix vigorously by vortex.  
*Check  $\beta$ ME has been added. All vegetal powder must be mixed with the buffer.*
- Add **60  $\mu$ L BPRNA-2 Buffer** and mix vigorously by vortex.
- Incubate at 50 °C for 5 minutes. Mix by inversion from time to time.
- Centrifuge at 13,000 g for 5 minutes.
- With a pipette, transfer the supernatant very carefully to another tube, avoiding vegetal debris.
- Add **0.5 volumes of absolute ethanol** (~ 250  $\mu$ L). Mix by inversion.
- Transfer up 700  $\mu$ L mixture to a High-Q™ RNA Spin Column placed into a Collection Tube.
- Centrifuge at 10,000 g for 1 minute. Remove the flow-through and place back the High-Q™ RNA Spin Column into a Collection Tube. If necessary, repeat steps 8 and 9 with the remaining mixture.
- Centrifuge at 10,000 g for 1 minute to dry the column matrix.
- Add **50  $\mu$ L DNase Mixture** in the center of High-Q™ RNA Spin Column.  
*DNase Mixture: Mix with pipette 5  $\mu$ L DNase-I + 45  $\mu$ L 10x DNase-I Buffer. Avoid vortex.*
- Incubate for 15 minutes at room temperature (15-25°C).
- Add **500  $\mu$ L WRNA-1 Buffer** (✓) and centrifuge at 10,000 g for 1 minute. Discard the flow-through and place the High-Q™ RNA Spin Column back into the Collection Tube.  
✓ Check Ethanol has been added.
- Add **500  $\mu$ L WRNA-2 Buffer** (✓).  
✓ Check Ethanol has been added.
- Centrifuge at 10,000 g for 1 minute. Discard flow-through. Place High-Q™ RNA Spin Column back in the Collection Tube and repeat from step 14.
- To dry silica matrix, centrifuge at 10,000g for 1 minute.
- Place High-Q™ RNA spin column into a clean 1.5-mL microcentrifuge tube.
- Carefully and without touching the matrix, add in the center of High-Q™ RNA Spin Column, **50-100  $\mu$ L Water** (nuclease free) prewarmed at 65°C.
- Incubate at room temperature for 1-2 minutes.
- Centrifuge for 1 minute at 13,000 g. RNA isolated is in the eluate. Discard High-Q™ RNA Spin Column.
- Store at -80°C.



# High-Q™-Spin-Column Plant RNA Purification Kit

## Referencias

TBK0278, 3 reacciones (muestra)

TBK0279, 20 reacciones

TBK0280, 50 reacciones

TBK0281, 100 reacciones

## Descripción

High-Q™-Spin-Column Plant RNA Purification Kit es un sistema de purificación fácil basado en el uso de matriz de sílica. El mismo permite la purificación de ARN de una amplia variedad de especies vegetales. Los altos rendimientos en la purificación se basa en la combinación de un buffer de lisis optimizado y el uso de las columnas High-Q™ RNA con matriz de sílica pre-empaquetada.

## Características

- **Seguridad**, no requiere extracción fenólica ni precipitación alcohólica.
- **Alto rendimiento y pureza** (A260/A280 ~2,0; A260/A230 ~2,0-2,2).
- El ARN aislado está listo para ser usado en aplicaciones siguientes.
- **Protocolo fácil y rápido.**

## Aplicaciones

- Purificación de ARN de tejido vegetal incluyendo hojas, semillas, frutas o raíces.
- Purificación de ARN de plantas usando muestras frescas, congeladas o secas.
- El ARN obtenido es adecuado para diversas técnicas de biología molecular tales como RT-PCR, RT-qPCR, Northern, librerías de ADN copia, ensayo de protección de nucleasas, traducción in vitro, etc.

## Control de Calidad

Análisis del ARN purificado: integridad (electroforesis en agarosa), cantidad y calidad (A260/280 ~2.0).

## Componentes

Componentes	TBK0279	TBK0280	TBK0281
High-Q™ RNA Spin Column with Collection Tubes	20	50	100
BPRNA-1 Buffer	15 mL <sup>a</sup>	35 mL <sup>a</sup>	60 mL <sup>a</sup>
BPRNA-2 Buffer	1,8 mL	2 x 1,8 mL	10 mL
DNase I (5 U/μL)	100 μL	250 μL	500 μL
10x DNase-I Buffer	1,5 mL	2 x 1,5 mL	10 mL
WRNA-1 Buffer	10 mL <sup>b</sup>	20 mL <sup>c</sup>	35 mL <sup>d</sup>
WRNA-2 Buffer	6 mL <sup>e</sup>	12 mL <sup>f</sup>	25 mL <sup>g</sup>
Water, nuclease free	5 mL	5 mL	10 mL

**Referencia Componentes:** High-Q™ RNA Spin Columns (TBM0012) | BPRNA-1 Buffer (TBB0555) | BPRNA-2 Buffer (TBB0556) | DNase-I (TBZ0320) | 10x DNase Buffer (TBB0319) | WRNA-1 Buffer (TBB0544) | WRNA-2 Buffer (TBB0545) | Water, nuclease free (TBB0302).

¡Los componentes de las muestras están listos para usar!

### Antes de usar:

- <sup>a</sup> Añadir 10 μL β-mercaptoetanol por 1 mL BPRNA-1 Buffer.
- <sup>b</sup> Añadir 6 mL etanol absoluto y mezclar bien.
- <sup>c</sup> Añadir 12 mL etanol absoluto y mezclar bien.
- <sup>d</sup> Añadir 21 mL etanol absoluto y mezclar bien.
- <sup>e</sup> Añadir 24 mL etanol absoluto y mezclar bien.
- <sup>f</sup> Añadir 48 mL etanol absoluto y mezclar bien.
- <sup>g</sup> Añadir 100 mL etanol absoluto y mezclar bien.

## Almacenaje

Conservar el kit a 25°C y la DNase I a -20°C.

## Material requerido (no suministrado)

- Tubos de 1,5 mL (libres de RNasa).
- Etanol (CAS 64-17-5).
- β-mercaptoetanol (βME) (CAS 60-24-2)

## PROTOCOLO

1. Macerar hasta 100 mg del material vegetal en nitrógeno líquido usando un mortero\*. Con una espátula fría recoger el polvo en un tubo de 1,5 mL, también congelado.

\* Puede emplearse cualquier otro método de disruptión mecánica.

2. Añadir **600 µL BPRNA-1 Buffer** y mezclar vigorosamente con vortex.  
*Comprobar que ha sido añadido el βME. Toda la muestra debe quedar mezclada con el buffer.*
3. Añadir **60 µL BPRNA-2 Buffer** y mezclar vigorosamente con vortex.
4. Incubar a 50°C durante 5 minutos. Mezclar por inversión en ese tiempo.
5. Centrifugar a 13.000 g durante 5 minutos.
6. Con una pipeta, transferir cuidadosamente el sobrenadante a un tubo limpio, evitando coger el debris celular.
7. Añadir **0,5 volúmenes de etanol absoluto** (~ 250 µL). Mezclar por inversión.
8. Transferir hasta 700 µL de la mezcla en el reservorio de High-Q™ RNA Spin Column colocada dentro del Collection Tube.
9. Centrifugar a 10.000 g durante 1 minuto. Eliminar el eluato y re-colocar la High-Q™ RNA Spin Column dentro del Collection Tube. Repetir los pasos 8 y 9 con la mezcla remanente.
10. Centrifugar a 10.000 g durante 1 minuto para secar la matriz de la columna.
11. Añadir **50 µL Mezcla DNasa** en el centro de la High-Q™ RNA Spin Column.  
*Mezcla DNasa: Mezclar con la pipeta 5 µL DNase-I + 45 µL 10x DNase-I Buffer. Evitar vortex.*
12. Incubar 15 minutos a temperatura ambiente (15-25°C).
13. Añadir **500 µL WRNA-1 Buffer** (✓) y centrifugar a 10.000 g durante 1 minuto. Eliminar el eluato y re-colocar la High-Q™ RNA Spin Column dentro del Collection Tube.  
✓ *Comprobar que el etanol ha sido añadido.*
14. Añadir **500 µL WRNA-2 Buffer** (✓).  
✓ *Comprobar que el etanol ha sido añadido.*
15. Centrifugar a 10.000 g durante 1 minuto. Eliminar el eluato y re-colocar la High-Q™ RNA Spin Column dentro del Collection Tube y repetir desde el paso 14.
16. Para el secado de la matriz, centrifugar a 10.000g durante 1 minuto.
17. Colocar la High-Q™ RNA Spin Column en un tubo limpio de 1,5-mL.
18. Cuidadosamente y sin tocar la matriz, añadir en el centro del reservorio de High-Q™ RNA Spin Column, **50-100 µL Water, nuclease free** precalentada a 65°C.
19. Incubar a temperatura ambiente durante 1-2 minutos.
20. Centrifugar a 13.000 g durante 1 minuto.
21. El ARN estará en el eluato. Conservar a -80°C.

