



Nukleinsäure- und Proteinaufreinigung mit TRItidy G™

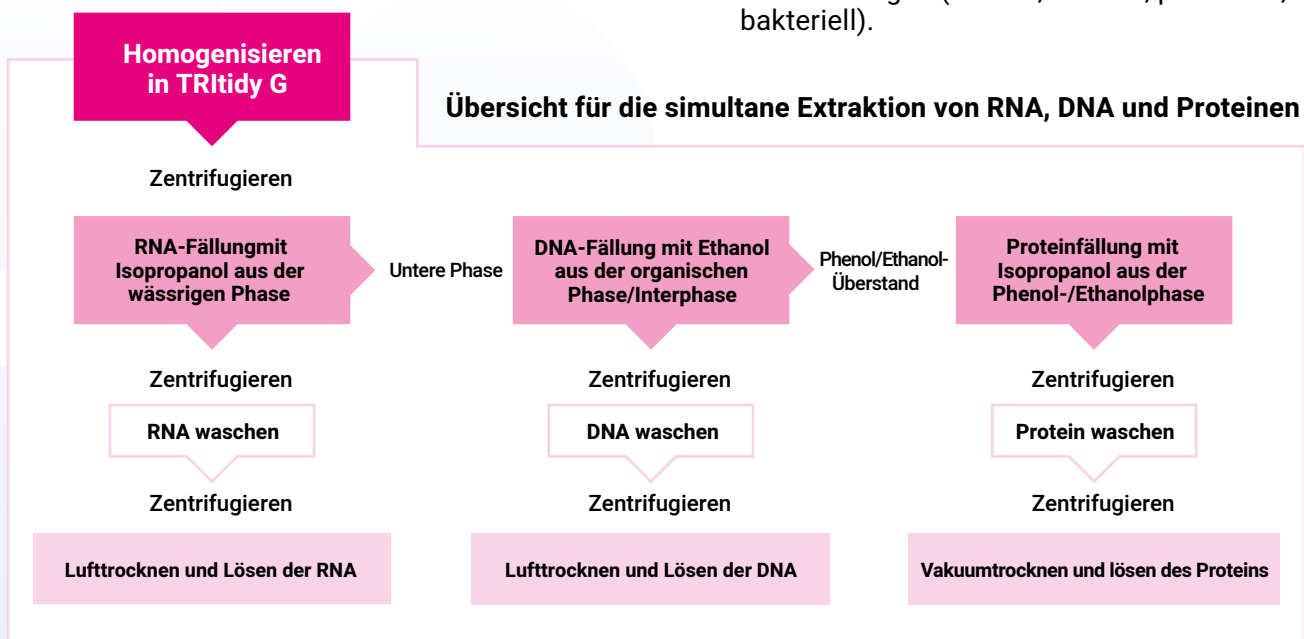
Gleichzeitige Isolation von RNA, DNA und Proteinen aus biologischen Proben wurde 1993 erstmals vorgestellt. Die Methode basierte auf phenolhaltigen Reagenzien und auf Guanidinthiocyanat. Die gewonnenen Isolate können für Northern-, Southern- und Westernblotting als auch für PCR, RT-PCR und enzymatische Assays benutzt werden. Die gesamte Rückgewinnung von DNA aus Proben der RNA und Proteingewinnung macht es möglich, innerhalb der Versuche gegen die DNAMenge zu normalisieren, anstatt den variablen Gesamt-RNA-Gehalt, die Proteinmenge oder das Probengewicht zu verwenden.

TRItidy G™ ist eine mono-Phasen Reagenz, die auf der Chomczynski Methode basiert. Es ist zusätzlich modifiziert, um eine höhere Reinheit von DNA, RNA und Proteinen zu erhalten. Zuerst wird die RNA bei der sauren Extraktion in der wässrigen Phase zurückgehalten, während DNA und Proteine in der organischen bzw. Interphase zurückbleiben. Die DNA wird durch Ethanol-fällung aus der Interphase/ organischen Phase isoliert, während die Proteine aus der verbleibenden organischen Phase kommen.



Hauptvorteile

- **TRItidy G™** erlaubt eine Ein-Schritt-Isolierung aus biologischen Proben.
- **Mono-phasische Reagenz.**
- Keine Säulen nötig zur Extraktion der Nukleinsäuren.
- **Schnelle** Prozedur.
- **Leicht** zu reproduzieren.
- Eignet sich für kleine und große Probenmengen (human, tierisch, pflanzlich, bakteriell).





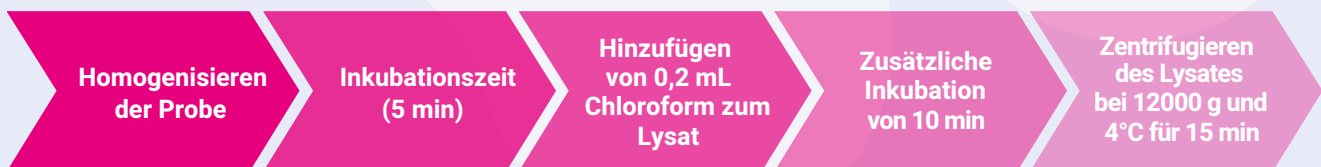
Vorbereitung der Proben

Abhängig vom Probentyp sollte die Homogenisierung nach unten stehendem Protokoll erfolgen. Das Volumen der Probe sollte nicht mehr betragen als 1/10 des Volumens von TRItidy G™.

Probenart	Vorgehensweise
Gewebe	Gewebe wird homogenisiert in ca. 1 mL TRItidy G™ pro 50 - 100 mg Gewebe
Zellkulturzellen (Monolayer)	Zellen werden in 1 mL/10 cm ² (3.5 cm Durchmesser) Platte, nach Abnahme des Mediums lysiert
Suspensionszellen	Vor Zugabe der Reagenz müssen die Zellen per Zentrifugation gesammelt werden (1 mL TRItidy G™ pro 1-5 x 10 ⁶ Zellen; Bakterien bis zu 1 x 10 ⁷)
Blutproben, Serum oder andere biologische Flüssigkeiten*	Hinzugabe von 750 µL TRItidy G™ pro 250 µL Probenvolumen

* **Anmerkung:** Biologische Flüssigkeiten mit hohem Proteinanteil oder anderen Substanzen (z.B. Gesamtblut) sollten 1:1 mit RNase-freiem Wasser für die Molekularbiologie (vorgeschlagenes Produkt: **A7398**) verdünnt werden

Phasentrennung



Aufreinigungsprotokoll für RNA, DNA und PROTEINE

RNA-Isolierung	DNA-Isolierung	Proteinisolierung
<ol style="list-style-type: none"> 1. Transferieren der wässrigen Phase in ein neues Gefäß 2. Zugabe 1:1 Isopropanol 3. Fällern der RNA auf Eis (15 min) und zentrifugieren 4. Waschen und lufttrocknen 5. Lösen des Pellets in 20 µL DEPC-behandeltem Wasser 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zugabe von Ethanol und Inkubation (5 min) 2. Zentrifugieren und Abnahme des Überstandes (Protein) 3. Waschen mit Natriumcitrat 0,1M und zentrifugieren (5 min) 4. Lufttrocknen der DNA und Lösen in ca. 0,5 mL 1X TE 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zugabe von Isopropanol zum Überstand (2:1) 2. Zentrifugieren (10 min) 3. Waschen des Proteinpräzipitates mit Guanidinhydrochlorid 0,3M und zentrifugieren (5 min) 4. Lufttrocknen des Präzipitates und Lösen in 1% SDS

Bestellinformationen

Produkt-nummer	Produktname	Packungsgröße
A4051	TRItidy G™	100 mL, 200 mL



Achtung: TRItidy G™ enthält Phenol und Guanidinthiocyanat. Bitte lesen Sie die Sicherheitsanweisungen vor Benutzung.

Zugehörige Produkte

Produkt-nummer	Produktname
A0881	DEPC BioChemica
A3678	Ethanol absolut für die Molekularbiologie
A1106	Guanidinhydrochlorid für die Molekularbiologie
A7398	Wasser für die Molekularbiologie

IP-033DE

