

TIARIZOL™ REAGENT

Ordering info

TBR0100, TIARIZOL™ Reagent, 50 mL

TBR0101, TIARIZOL™ Reagent, 100 mL (2 x 50 mL)

Description

TIARIZOL™ REAGENT is a red monophasic ready-to-use formulation widely used and proven for RNA and DNA isolation. It allows a quick, economical, and efficient isolation of total RNA/ DNA. The reagent is employed in a sequential procedure: cationic lysis, followed by organic extraction and alcohol precipitation. After lysis and homogenization of the biological sample, three phases are separated. RNA and DNA are precipitated with isopropyl alcohol from colorless aqueous phase (upper) and interphase, respectively.

Features

- Ready to use formulation.
- Easily scalable nucleic acid isolation.
- Simultaneous RNA and DNA extraction.
- High yield and purity (A260/A280 ~2.0).
- RNA obtained can be directly used for any downstream applications: cDNA library, Northern blotting, nuclease protection assay, RT-PCR, in vitro translation, etc.

Applications

- Isolation of total RNA and DNA from various types of tissues and cells.
- RNA and DNA isolation from samples of different sources: human, animal, plant, yeast, bacterial, viral or cell culture.

Storage

Store at 2-8°C. Protect from light.

Reagents and Solutions Required (not supplied)

- Chloroform (CAS 67-66-3).
- Isopropyl Alcohol (CAS 67-63-0).
- Ethanol (CAS 64-17-5).
- Sodium Citrate, Dihydrate (CAS 6132-04-3).
- Sodium Citrate 0.1M in 10% Ethanol, pH=8.5.
- Ethanol 70% in Water Nuclease Free.
- Water, nuclease free (TBB0300).

Quality Control

Functionally tested.

Also available:

High-Q Spin Column TIARIZOL™ Plus RNA Purification Kit (TBK0244, TBK0245)

TIARIS™ Protect Tissue Buffer (TBB0430)



PROTOCOL FOR TOTAL RNA ISOLATION

I. HOMOGENIZATION

Blood: Add **3 volumes of TIARIZOL™ Reagent** to 300 µL of Blood or Buffy Coat and mix well by vortex.

Tissues: Use the following proportion:

50-100 mg tissue	1 mL TIARIZOL™ Reagent
1-10 mg tissue	0.8 mL TIARIZOL™ Reagent

OPTIONAL: Following homogenization, insoluble material could be removed by centrifugation at 12.000 x g for 10 minutes at 4°C. Transfer the cleared homogenate to a fresh tube.

Cells grown in suspension: Pellet cells at 200 x g for 5 minutes at room temperature. Resuspend cell pellet using the following proportion:

5.10 ⁶ cells	1 mL TIARIZOL™ Reagent
10 ² -10 ⁶ cells	0.8 mL TIARIZOL™ Reagent

Pass the lysate several times through a pipette tip.

At his stage, samples can be stored for at least one month at -80°C.

Cells grown on monolayer: Lyse cells directly in a culture dish or flask by adding 1 mL of TIARIZOL™ Reagent per 10 cm² growth area, pipette the cell lysate several times to ensure sufficient cell disruption.

II. PHASE SEPARATION

1. Incubate 5 minutes at room temperature.
2. Add **0.2 mL of chloroform** per 1 mL of TIARIZOL™ Reagent used.
3. Shake vigorously by vortex for 15 seconds.
4. Incubate 3 minutes at room temperature.
5. Centrifuge at 12,000 g for 15 minutes (or 2,600 g for 30 minutes) at 4°C.
6. The sample will separate into a red lower organic layer, a white interphase and a colorless upper aqueous layer that contains the RNA.

III. RNA PRECIPITATION

1. Transfer the aqueous phase very carefully, without disturbing the interphase to another tube.
2. Add **0.5 mL of cold isopropyl alcohol** per 1 mL TIARIZOL™ Reagent used.
3. Incubate for 10 minutes at room temperature.
4. Centrifuge at 12,000 g for 10 minutes (or 2,600 g for 30 minutes) at 4°C.

IV. RNA WASH

1. Remove the supernatant and wash the pellet once with 70% ethanol, adding at least **1 mL Ethanol 70%** per 1 mL of TIARIZOL™ Reagent used.
2. Centrifuge at 7,500 g for 5 minutes at 4°C and remove the supernatant.

V. RNA RESUSPENSION

1. Air-dry the pellet and dissolve in Water (nuclease free) by pipetting the solution up and down.
2. Incubate for 10 minutes at 60°C if necessary.
3. Store RNA at -80°C.

PROTOCOL FOR DNA ISOLATION

I. HOMOGENIZATION

II. PHASE SEPARATION

Employ the same procedures described in previous protocol. DNA is partitioned in the white interphase.

III. DNA PRECIPITATION

1. Carefully remove all upper colorless aqueous phase.
2. Change pipet tip, transfer the white interphase to a clean tube.
3. Add 0.3 mL of absolute ethanol per 1 mL of TIARIZOL™ Reagent used in the previous steps.
4. Mix well by inverting tubes several time.
5. Incubate for 10 minutes at room temperature.
6. Centrifuge at 2,000 g for 10 minutes at 4°C.

IV. DNA WASH

1. Remove the supernatant and add 1 mL of Sodium Citrate Solution per mL of TIARIZOL™ Reagent used at the beginning.
2. Incubate at room temperature for 30 minutes. Gently invert the tube. Repeat the inversion regularly.
3. Centrifuge at 2,000 g for 10 minutes at 4°C.
4. Repeat once steps 1-3.
5. Remove the supernatant and wash the pellet with 70% ethanol, adding 1.5 mL of ethanol per 1 mL of TIARIZOL™ Reagent used.
6. Centrifuge at 2,000 g for 5 minutes at 4°C.
7. Discard the supernatant.

V. DNA RESUSPENSION

1. Air-dry the pellet for 10 minutes and dissolve in Water (nuclease free) by pipetting.
2. Incubate for 10 minutes at 60°C if necessary.
3. Store DNA at -20°C for downstream uses.

TIARIZOL™ REAGENT

Referencias

TBR0100, TIARIZOL™ Reagent, 50 mL

TBR0101, TIARIZOL™ Reagent, 100 mL (2 x 50 mL)

Description

TIARIZOL™ REAGENT es una formulación monofásica de color rojo lista para usar, ampliamente comprobada y utilizada para el aislamiento de ARN y ADN. Permite un aislamiento rápido, económico y eficiente de ARN/ ADN total. El reactivo se emplea en un procedimiento secuencial: lisis catiónica, seguida de extracción orgánica y precipitación con alcohol. Después de la lisis y homogeneización de la muestra biológica, se separan tres fases. El ARN y el ADN se precipitan con alcohol isopropílico a partir de la fase acuosa incolora (superior) y de la interfase.

Características

- Formulación lista para usar.
- Aislamiento de ácidos nucleicos **fácilmente escalable**.
- Extracción **simultánea** de ARN y ADN.
- **Alto rendimiento y pureza** (A260/A280 ~2,0).
- El ARN obtenido puede utilizarse directamente en cualquier aplicación posterior: biblioteca de ADN copia, Northern blotting, ensayo de protección de nucleasas, RT-PCR, traducción *in vitro*, etc.

Aplicaciones

- Aislamiento de ARN y ADN total de varios tipos de tejidos y células.
- Aislamiento de ARN y ADN de muestras de diferentes fuentes: humana, animal, vegetal, levaduras, bacteriana, viral o cultivos celulares.

Almacenaje

Conservar a 2-8°C. Proteger de la luz.

Reactivos y Soluciones Requeridas (no incluidas)

- Cloroformo (CAS 67-66-3).
- Isopropanol (CAS 67-63-0).
- Etanol (CAS 64-17-5).
- Citrato de Sodio, Dihidrato (CAS 6132-04-3).
- Citrato de Sodio 0,1M en 10% Etanol, pH=8,5.
- Etanol 70% en Agua Libre de Nucleasas.
- Agua, libre de nucleasas (TBB0300).

Control de Calidad

Funcionalmente testado.

También disponemos de:

High-Q Spin Column TIARIZOL™ Plus RNA Purification Kit (TBK0244, TBK0245)

TIARIS™ Tissue Protect Buffer (TBB0430)



PROTOCOLO PARA AISLAMIENTO DE ARN TOTAL

I. HOMOGENIZACIÓN

Sangre: Añadir **3 volúmenes de TIARIZOL™ Reagent** a 300 µL de Sangre o Capa de Leucocitos y mezclar bien con vortex.

Tejidos: Usar la siguiente proporción:

50-100 mg tejido	1 mL TIARIZOL™ Reagent
1-10 mg tejido	0,8 mL TIARIZOL™ Reagent

OPCIONAL: Tras la homogenización, el material insoluble puede ser eliminado por centrifugación a 12.000 x g durante 10 minutos a 4°C. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio.

Células cultivadas en suspensión: Recoger las células a 200 x g durante 5 minutos a temperatura ambiente. Dejar unos 100 µL del sobrenadante y resuspender el pellet. Añadir el TIARIZOL™ Reagent usando la siguiente proporción:

5.10 ⁶ cells	1 mL TIARIZOL™ Reagent
10 ² -10 ⁶ cells	0,8 mL TIARIZOL™ Reagent

Pipetear varias veces la mezcla para garantizar una ruptura óptima.

En este paso las muestras pueden almacenarse durante al menos un mes a -80°C.

Células cultivadas en monocapa: Lisar las células directamente en el frasco de cultivo agregando 1 mL de TIARIZOL™ Reagent por cada 10 cm² de área de cultivo. Pipetear el lisado celular varias veces.

II. SEPARACIÓN EN FASES

1. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
2. Añadir **0,2 mL de cloroformo** por cada mL de TIARIZOL™ Reagent usado.
3. Agitar vigorosamente con vortex durante 15 segundos.
4. Incubar 3 minutos a temperatura ambiente.
5. Centrifugar a 12.000 g durante 15 minutos (o 2.600 g durante 30 minutos) a 4°C.
6. La muestra se separará en una capa orgánica inferior de color rojo, una interfase blanca y una capa acuosa superior incolora que contiene el ARN.

III. PRECIPITACIÓN DE ARN

1. Transferir la fase acuosa cuidadosamente a otro tubo, sin perturbar la interfase.
2. Añadir **0,5 mL de isopropanol frío** por cada 1 mL de TIARIZOL™ Reagent usado.
3. Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
4. Centrifugar a 12.000 g durante 10 minutos (o 2.600 g durante 30 minutos) a 4°C.

IV. LAVADO DEL ARN

1. Eliminar el sobrenadante y lavar el pellet añadiendo al menos **1 mL Etanol 70%** por cada mL de TIARIZOL™ Reagent usado.
2. Centrifugar a 7.500 g durante 5 minutos a 4°C y eliminar el sobrenadante.

VI. RESUSPENSIÓN DEL ARN

1. Secar el pellet y disolver en Agua (libre de nucleasas) mediante pipeteo.
2. Incubar durante 10 minutos a 60 °C si es necesario.
3. Conservar el ARN a -80°C.

PROTOCOLO PARA AISLAMIENTO DE ADN

I. HOMOGENIZACIÓN

II. SEPARACIÓN EN FASES

Emplear el mismo procedimiento descrito previamente. El ADN pasa a la interfase blanca.

III. PRECIPITACIÓN DE ADN

1. Cuidadosamente eliminar toda la fase superior incolora.
2. Cambiar la pipeta, transferir la interfase blanca a un tubo limpio.
3. Añadir 0,3 mL de etanol absolute por cada 1 mL de TIARIZOL™ Reagent empleado.
4. Mezclar invirtiendo varias veces el tubo.
5. Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
6. Centrifugar a 2.000 g durante 10 minutos a 4°C.

IV. LAVADO ADN

1. Eliminar el sobrenadante y añadir **1 mL de Solución de Citrato de Sodio 0,1M en etanol, pH 8,5** por cada mL de TIARIZOL™ Reagent usado.
2. Incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Invertir suavemente el tubo y repetir este proceso regularmente.
3. Centrifugar a 2.000 g durante 10 minutos a 4°C.
4. Repetir los pasos 1-3.
5. Eliminar el sobrenadante y lavar el pellet añadiendo **1,5 mL de Etanol 70%** por cada 1 mL de TIARIZOL™ Reagent usado.
6. Centrifugar a 2.000 g durante 5 minutos a 4°C.
7. Eliminar el sobrenadante.

V. RESUSPENSIÓN DEL ADN

1. Secar el pellet y disolver en Agua (libre de nucleasas) mediante pipeteo.
2. Incubar durante 10 minutos a 60 °C si es necesario.
3. Conservar el ADN a -20°C.