

# Genaxxon BioScience

## Verwendung von Glycerin

fon:  
 +49 (0)7357 - 91 63 77  
 fax:  
 +49 (0)7357 - 91 63 78  
 eMail:  
 info@genaxxon.com  
 internet:  
 www.genaxxon.com

Produkt	Kat#	Packungsgrößen
Glycerin wasserfrei, Molekularbiologie Grade	M3097	0.5 L; 1.0 L; 2.5 L
Glycerin wasserfrei, p.A.	M3268	0.5 L; 1.0 L; 2.5 L
Glycerin wasserfrei, 87%. Molekularbiologie Grade	M6043	0.5 L; 1.0 L; 2.5 L
Glycerin wasserfrei, 87%, p.A.	M6044	0.5 L; 1.0 L; 2.5 L

### Product description

Glycerin wird in vielen Experimenten den Puffern, Medien und Reagenzien zugesetzt. In der Regel wird wasserfreies oder 87%iges Glycerin (Wassergehalt ca. 13 %) verwendet. Letzteres ist qualitativ mit wasserfreiem Glycerin identisch, besitzt aber den Vorteil weniger viskos zu sein. Wasserfreies Glycerin ist schwer zu pipettieren, besonders bei niedrigeren Temperaturen. Glycerin wird durch Autoklavieren (20 Min., Flüssigprogramm) sterilisiert. Bei photometrischen Proteinbestimmungen stört Glycerin in Konzentrationen über 5 % (v/v) bei 205 nm und über 40 % (v/v) bei 280 nm.

Zur Erhöhung der Transfektionseffizienz von Säugerzellen nach der Calciumphosphat-Transfektion, werden Zellen unter Umständen einem Glycerin- oder DMSO-Schock ausgesetzt (3, 4). Beide Substanzen sind giftig für die Zellen und die Dauer der Inkubation muss für jeden Zelltyp bestimmt werden. Eine Weiterentwicklung der Calciumphosphat-Methode schlägt die Zugabe von Glycerin bereits während der eigentlichen Transfektion vor (5). In der Reinigung von Bakteriophage I ist Glycerin als Trennmedium geeignet (Ref. 3 Seite 2.78).

Einfrieren von Zellkultur-Zellen:

Glycerin wird in der Zellkultur zum Einfrieren von Zellen alternativ zu DMSO verwendet. Glycerin soll die Eiskristallbildung während des Einfrierprozesses verhindern, da dadurch die Zellen zerstört werden. Üblicherweise wird Glycerin in der Konzentration von 10 % verwendet. Als Einfriermedium verwendet man häufig das übliche Kulturmedium unter Zusatz von 10 % Glycerin oder DMSO bzw. manche verwenden auch 90 % Serum, 10 % Glycerin oder DMSO, was die Lebensfähigkeit erhöht. Die meisten Zellen werden nicht direkt in flüssigen Stickstoff transferiert, sondern langsam eingefroren (Kühlschrank -70°C gut verpackt für langsames Kühlen - Stickstoff). Bei Wiederauftauen für weitere Kultivierung sollte das Auftauen möglichst schnell durchgeführt werden. Es empfiehlt sich die Zellen einmal in Medium zu waschen oder innerhalb von 48 Stunden nach dem Ausplattieren das Medium zu wechseln.

Einfrieren von Bakterien (2):

Zum Einfrieren von Bakterien wird je nach Technik 15 - 50 % Glycerin zugesetzt. Methode I: 0,15 Volumina steriles Glycerin werden zu 0,85 Volumina Kultur in LB-Medium gegeben und in sterilen Schraubverschluß-Kryoröhrchen im Ethanol/Trockeneisbad oder flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Lagerung erfolgt bei -70°C. Methode II: Von einer Agarplatte wird eine Kultur abgeschabt oder das Pellet einer Übernachtskultur wird gut mit TM-Puffer (10 mM Tris · HCl (pH 7,4), 10 mM MgSO<sub>4</sub>, 50 % Glycerin (Endkonzentration) gemischt und eingefroren wie oben beschrieben. Um die Bakterien wieder in Kultur zu nehmen, muss die Suspension nicht aufgetaut werden. Es reicht, wenn mit einem Zahnstocher etwas Material abgeschabt und damit Medium angeimpft wird.

(1) Ogden, R.C. & Adams, D.A. (1987) Methods Enzymol. 152, 61-87  
 Überblick über Gelelektrophorese von DNA und RNA mit Rezepten für Puffer und Lösungen und Durchführung der Gelelektrophorese.

(2) Miller, H. (1987) Methods Enzymol. 152, 145-170

Herstellung von Phagen- und Plasmid-DNA zur Aufbewahrung als Reinkultur.

(3) Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition. Seite 16.32-35 (Glycerin-Schock); Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

(4) Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. & Struhl, K. (eds.) (1995) Current Protocols in Molecular Biology. Seite 9.1.7 (Glycerin-Schock); Suppl. 36. Greene Publishing & Wiley-Interscience, New York.

(5) Wilson, S.P. & Smith, L.A. (1997) Anal. Biochem. 246, 148-150

Zugabe von Glycerin während der DNA-Inkubation erhöht die Transfektionseffizienz.