

DNA-LÄNGENMARKER

Tipps zur Anwendung

DNA-LÄNGENMARKER UND -LEITERN

Roth bietet Ihnen ein vielfältiges Markersortiment mit DNA-Markern für jede Gelegenheit. Unsere DNA-Marker erzeugen scharfe, deutliche Banden. Die unregelmäßigen Marker tragen offene *EcoRI* Schnittstellen an den Enden und können daher problemlos markiert werden.

Die DNA-Marker werden fertig gelöst oder in lyophilisierter Form ausgeliefert. Der Gelladepuffer zum Lösen der lyophilisierten DNA-Fragmente wird mitgeliefert. Als Gelladepuffer verwenden wir Roti®-Load DNA mit Glycerin (Best.-Nr. 0100.1) oder den speziellen short-run-Laufpuffer mit Glycerin (Best.-Nr. 0099.1).

Anlieferung: Alle unsere DNA-Marker werden bei Raumtemperatur ausgeliefert. In den ‚trockenen‘ Marker-Versionen ist die lyophilisierte DNA hochstabil. Bei den gelösten *ready-to-use* Marker ist die DNA durch die verwendete Gelladepuffer-Formulierung soweit stabil, dass sie ohne jeden Qualitätsverlust viele Tage bis einige Wochen bei mäßiger Raumtemperatur gelagert / transportiert werden kann.

Lagerung: Lagern Sie die Marker in kleinen Aliquots bei -20 °C. Einzelne Aliquots zum ständigen Gebrauch können bei +4 °C gelagert werden.

Auftragsmenge: Bei höherer Bandenanzahl mehr Marker auftragen. Für kurze Auftrennstrecken die Auftragsmenge reduzieren. Für Polyacrylamidgele reicht i. d. R. 1/5 bis 1/2 der Markermenge eines Agarosegels.

Schnelle Gele: Roth'sche Marker trennen auch unter hohen Spannungen sehr gut auf. Achten Sie aber darauf, ausreichend und frischen Gellaufpuffer aus frischem, vollentsalztem Wasser zu verwenden.

Farbstoffkonzentration: Erscheinen Ihnen die Farbstoffbanden zu prominent, können Sie den Marker mit 1 x TE bis zu 1:2 verdünnen (Roti®-Stock 100 x TE, Best. Nr. 1052.1).

Zum **direkten Nachweis der Marker DNA im Gel unter UV- oder Blaulicht** empfehlen wir, lyophilisierte Marker-DNA zu verwenden. Die Marker-DNA wird zunächst in sterilem Wasser oder 1xTE aufgenommen und dann mit Roti®-Load DNASTAIN (6x konz.) versetzt. Der angesetzte Marker kann aliquotiert bei -20 °C aufbewahrt werden. Roti®-Load DNASTAIN enthält einen Fluoreszenzfarbstoff, der durch UV- und Blaulicht angeregt werden kann und bei 525 nm emittiert.

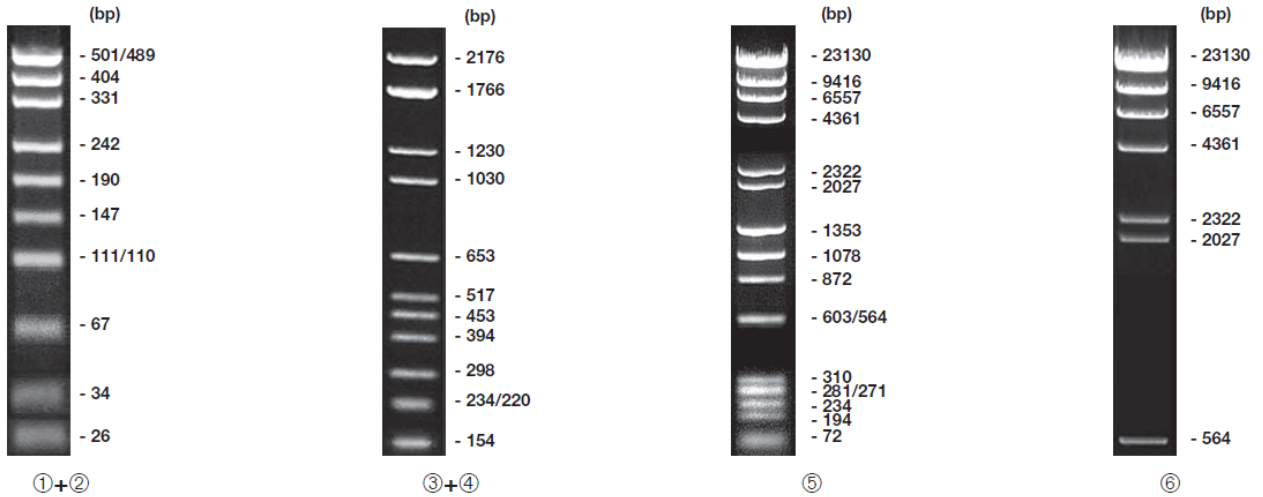
„Falsch“ laufende Banden: Unter extremen Bedingungen (hohe Spannungen, kurze Auftrennstrecken, Salzgehalt in den Proben >150 mM) können unplausible Ergebnisse auftreten, die u.a. durch partielle Strangtrennung der DNA hervorgerufen werden. Zur Abhilfe empfehlen wir: a) Zusatz von Restriktionspuffer zum Marker um den Salzgehalt anzugleichen, b) geringere Auftrennungsspannung, c) auf gute Wärmeabführung achten (evl. Gele vor oder während des Laufs kühl stellen).

TIPPS ZUR DNA-MENGENABSCHÄTZUNG IN AGAROSEGELEN

- Achten Sie zunächst darauf, die Vergleichs-DNA (also z.B. den Marker) wirklich quantitativ im Puffer zu lösen, um die volle DNA-Konzentration zu erreichen.
- Lassen Sie das Gel weit genug laufen, so dass die Banden Raum erhalten, die DNA sich in der Bande verteilt und sich gut anfärben lässt.
- Färben Sie das Gel gut durch - wir empfehlen die Färbung nach dem Gellauf. Eine DNA-Färbung durch den Zusatz von Ethidiumbromid in der Agarose erzielt keine regelmäßige Verteilung über die Gelfläche und ist häufig nicht quantitativ.
- Tragen Sie mehrere Spuren Vergleichs-DNA mit verschiedenen Mengen auf, um mehrere Banden vergleichen zu können. Zur genaueren Konzentrationsbestimmung kann hierdurch auch eine Kalibrierungskurve erstellt werden.
- Verwenden Sie zum Vergleich am besten Banden, die in ähnlicher Größenordnung wie Ihre DNA liegen (maximal ± 50 % der Fragmentlänge).
- Ethidiumbromid wird bei linearer DNA deutlich effizienter zwischen die Basenpaarstapel integriert als bei cyclischer DNA. Achten Sie deshalb darauf, dass die Konformation der DNA, deren Konzentration Sie abschätzen möchten, identisch ist mit derjenigen der Vergleichs-DNA. Im Fall von cyclischer DNA, also z.B. isolierten Plasmiden, sollten Sie ebenfalls cyclische DNA verwenden, also z.B. die Plasmid-DNA pUC19 (Best-Nr. X911.1) oder pBR322 (Best-Nr. X912.1). Wenn Sie einen DNA-Marker als Vergleichs-DNA verwenden und cyclische DNA messen möchten, sollten Sie zunächst ein Aliquot dieser DNA durch Restriktionsverdau linearisieren und diesen Ansatz auf das Gel auftragen.
- Im Falle des *Lambda/Hind* III Markers: Verwenden Sie nicht die 4,4 kb Bande des Markers zur Konzentrationsbestimmung, da diese häufig nicht quantitativ vorliegt, sondern über die *cos*-site an das große Fragment gekoppelt ist. Wenn Sie die 4,4 kb Bande benötigen, achten Sie darauf, den Marker vor Auftrag zu erhitzen (5 Minuten bei 65 °C).
- Verwenden Sie zur Konzentrationsabschätzung die großen Markerfragmente eines Lambda Markers nur dann, wenn Ihre Fragmente im gleichen Größenbereich liegen. Die Färbung der großen Banden wird von vielen bildgebenden Systemen nicht mehr proportional zur DNA-Menge dargestellt.

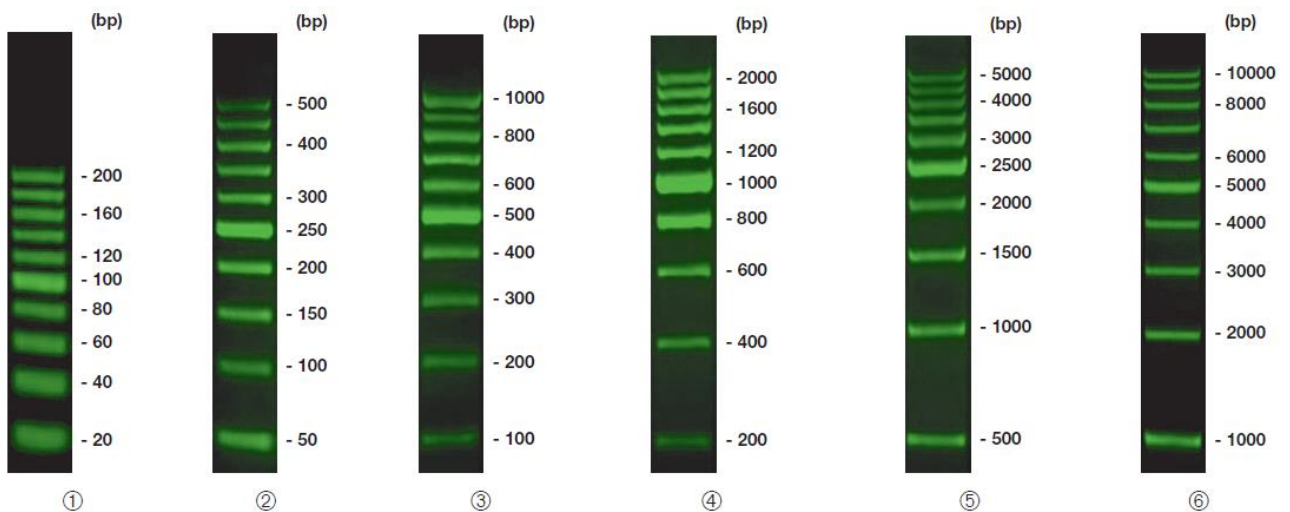
UNREGELMÄßIGE DNA-LÄNGENMARKER

Marker	pUC19-Marker ready-to-use	pUC19/Mspl	pBR328-Marker ready-to-use	pBR328 Mix I	Lambda Hind III / phIX Hae III Marker	Lambda Hind III Marker
Best.-Nr.	X901 (Abb. 1)	T149 (Abb. 2)	X902 (Abb. 3)	T146 (Abb. 4)	CP49 (Abb. 5)	X910 (Abb. 6)
Größenbereich (bp)	26 - 501	26 - 501	154 - 2176	154 - 2176	72 - 23130	125 - 23130
Anzahl Fragmente	10	10	11	11	17	8
Verstärkte Bande bei (bp)	-	-	-	-	-	-
Quantifizierung	empfohlen	empfohlen	empfohlen	empfohlen	empfohlen	empfohlen
Anzahl Spuren im Minigel	200 / ml	200 / 100 µg	200 / ml	200 / 100 µg	200 / 100 µg	200 / 100 µg
Versand	ready-to-use	lyophilisiert	ready-to-use	lyophilisiert	lyophilisiert	lyophilisiert



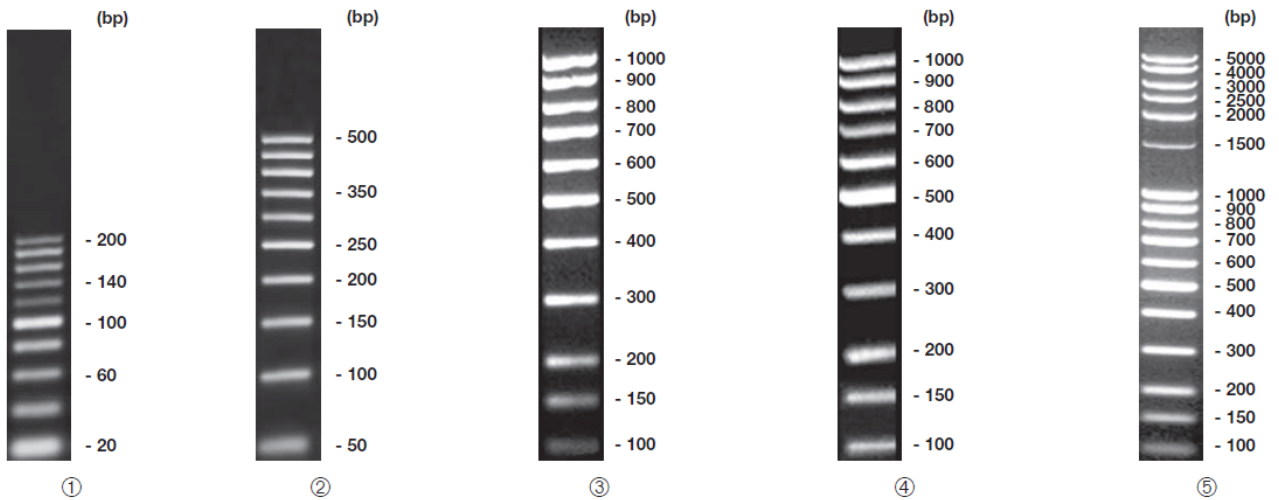
REGELMÄßIGE DNA-LÄNGENMARKER MIT FLUORESCENZFARBSTOFF

Marker	20 bp-DNA-Fluoro-Leiter	50 bp-DNA-Fluoro-Leiter	100 bp-DNA-Fluoro-Leiter	200 bp-DNA-Fluoro-Leiter	500 bp-DNA-Fluoro-Leiter	1 kbp DNA-Fluoro-Leiter
Best.-Nr.	8262 (Abb. 1)	8263 (Abb. 2)	8264 (Abb. 3)	8265 (Abb. 4)	8266 (Abb. 5)	8267 (Abb. 6)
Größenbereich (bp)	20 - 200	50 - 500	100 - 1000	200 - 2000	500 - 5000	1000 - 10000
Anzahl Fragmente	10	10	10	10	10	10
Verstärkte Bande bei (bp)	100	250	500	1000	2500	5000
Färbung	fluoreszent/grün	fluoreszent/grün	fluoreszent/grün	fluoreszent/grün	fluoreszent/grün	fluoreszent/grün
Quantifizierung	möglich	möglich	möglich	möglich	möglich	möglich
Anzahl Spuren im Minigel	200 / ml	200 / ml	200 / ml	200 / ml	200 / ml	200 / ml
Versand	ready-to-use	ready-to-use	ready-to-use	ready-to-use	ready-to-use	ready-to-use

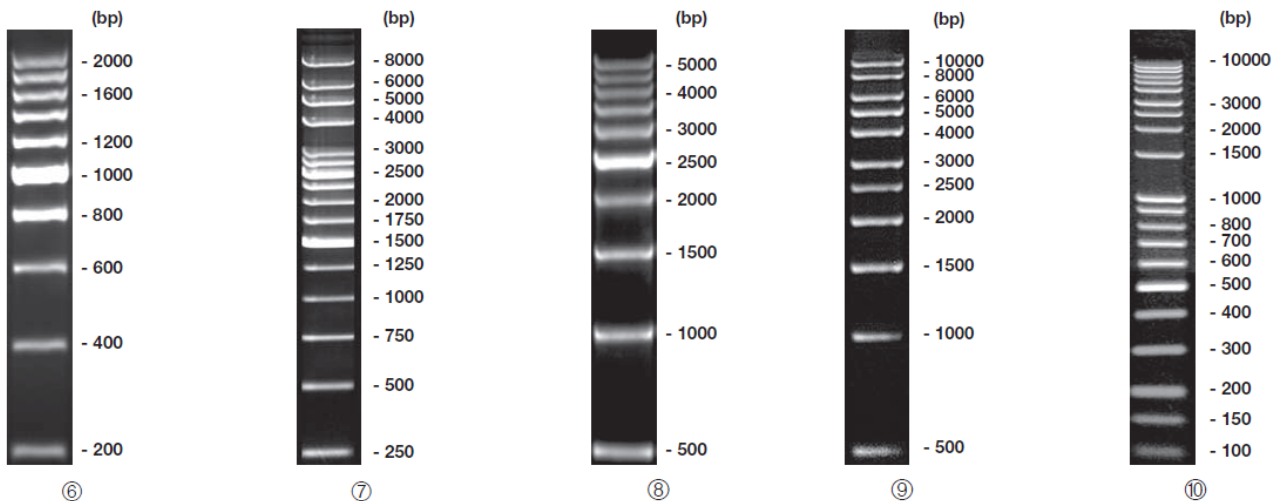


REGELMÄßIGE DNA-LÄNGENMARKER (UNGEFÄRBT)

Marker	20 bp-DNA-Leiter	50 bp-DNA-Leiter	100 bp-DNA-Leiter äquimolar	100 bp-DNA-Leiter equalized	100 bp-DNA-Leiter extended
Best.-Nr.	2805 (Abb. 1)	2810 (Abb. 2)	1834 (Abb. 3)	1833 (Abb. 4)	1835 (Abb. 5)
Größenbereich (bp)	20 - 200	50 - 500	100 - 1000	100 - 1000	100 - 5000
Anzahl Fragmente	10	10	11	11	17
Verstärkte Bande bei (bp)	100	250	500	500	500
Quantifizierung	möglich	möglich	empfohlen	möglich	möglich
Anzahl Spuren im Minigel	200 / ml	200 / ml	200 / 100 µg	500 / 100 µg	160 / 100 µg
Versand	ready-to-use	ready-to-use	lyophilisiert	lyophilisiert	lyophilisiert

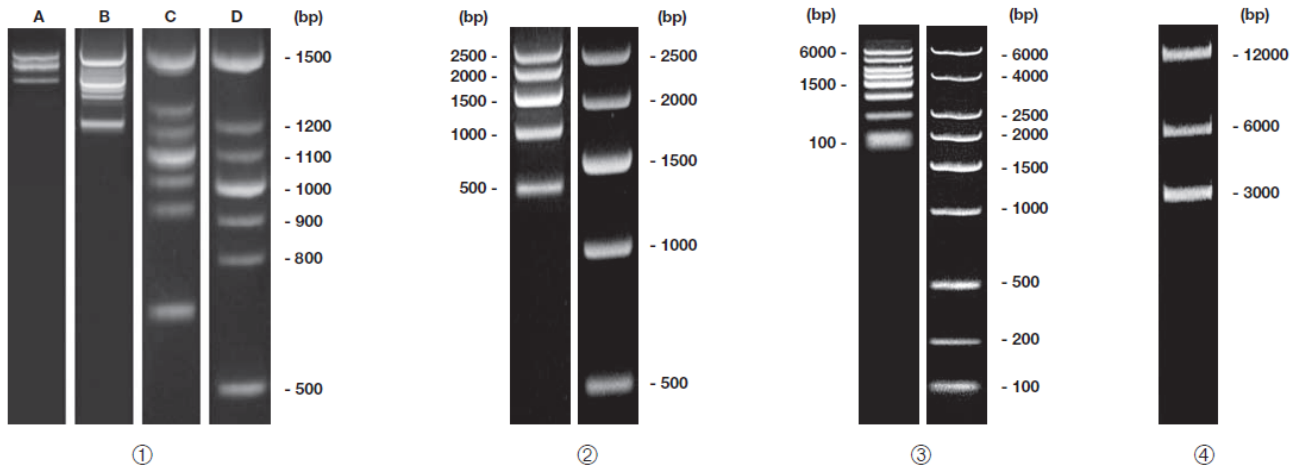


Marker	200 bp-DNA-Leiter	250 bp-DNA-Leiter	500 bp-DNA-Leiter	1 kbp DNA-Leiter	DNA-Leiter kombi
Best.-Nr.	8272 (Abb. 6)	T918 (Abb. 7)	8273 (Abb. 8)	Y014 (Abb. 9)	CL22 (Abb. 10)
Größenbereich (bp)	200 - 2000	250 - 8000	500 - 5000	500 - 10000	100 - 10000
Anzahl Fragmente	10	16	10	11	20
Verstärkte Bande bei (bp)	1000	1500, 2500	2500	-	500
Quantifizierung	möglich	-	möglich	-	-
Anzahl Spuren im Minigel	200 / ml	200 / 100 µg	200 / ml	200 / 100 µg	200 / 140 µg
Versand	ready-to-use	lyophilisiert	ready-to-use	lyophilisiert	lyophilisiert



DNA-LÄNGENMARKER FÜR KURZE LÄUFE

Marker	PCR-Marker DNAscore	DNA-Marker short run 1	DNA-Marker short run extended	DNA-Marker ccc-Plasmid
Best.-Nr.	T917 (Abb. 1)	0146 (Abb. 2)	CL05 (Abb. 3)	0149 (Abb. 4)
Größenbereich (bp)	500 - 1500	500 - 2500	100 - 6000	3000 - 12000
Anzahl Fragmente	7	5	9	3
Verstärkte Bande bei (bp)	500, 1000, 1500	1500	1500	-
Quantifizierung	möglich	möglich	möglich	-
Anzahl Spuren im Minigel	200 / 100 µg	400 / 100 µg	300 / 100 µg	1000 / 100 µg
Versand	lyophilisiert	lyophilisiert	lyophilisiert	lyophilisiert



Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5
 76185 Karlsruhe
 Postfach 100121
 76231 Karlsruhe
 Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0
 Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149
 E-Mail: info@carlroth.de
 Internet: www.carlroth.de

s.s.04.2016