



# Gebrauchsanweisung

## Roti®-Load DNASTain

Ready-to-use, DNase-frei, nicht-toxisch  
6x DNA-Gelladepuffer mit DNA-  
Fluoreszenzfarbstoff

### I. Einleitung:

Vielseitiges Reagenz zum Gellauf und zur gleichzeitigen Färbung von doppelsträngiger Nukleinsäure in Agarose- und Polyacrylamidgelen. Roti®-Load DNASTain detektiert bis 0,2 ng pro Bande, und ist damit ebenso sensitiv wie Ethidiumbromid.

### II. Zusammensetzung:

6 x Roti®-Load DNASTain setzt sich wie folgt zusammen:

TRIS/HCl pH 7,5	60 mM
EDTA	60 mM
Glycerin	60 % (w/v)
DNASTain 1: Bromphenolblau, Xylencyanolblau, EvaGreen®	
DNASTain 2: Xylencyanolblau, Orange G, EvaGreen®	
DNASTain 3: Orange G, EvaGreen®	

#### **Carl Roth GmbH+Co. KG**

Schoemperlenstraße 3-5  
76185 Karlsruhe  
Postfach 100121  
76231 Karlsruhe

Telefon: (+49)721/5606-0  
Telefax: (+49)721/5606-149  
E-Mail: [info@carlroth.de](mailto:info@carlroth.de)  
Internet: [www.carlroth.de](http://www.carlroth.de)

s.t. 04/2017

Durch den Glycerin-Anteil in Roti®-Load DNASTain wird die Dichte Ihrer DNA-Lösung erhöht und damit gewährleistet, dass sie sich gleichmäßig am Boden der Geltasche verteilt. Bromphenolblau bzw. Orange G und Xylencyanol dienen der Erleichterung des Probenauftrags und als Laufmarkierung. Durch den Zusatz von Tris und EDTA wird die Stabilität der DNA erhöht. EvaGreen® ist ein nicht-toxischer Fluoreszenzfarbstoff, der während des Gellaufs die Nukleinsäure färbt.

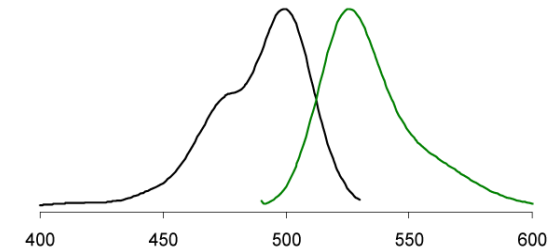
### III. Färbung:

Das innovative Reagenz enthält den Fluoreszenzfarbstoff EvaGreen®, der speziell für die schonende DNA-Analyse entwickelt wurde. Die DNA-Integrität wird durch EvaGreen® nicht beeinträchtigt, so dass geelulierte DNA ohne störende Effekte in übliche down-stream Applikationen wie Ligationen, PCR, Transformation, Transfektion etc. eingesetzt werden kann.

Die DNA Bindung von EvaGreen® basiert auf der 'release-on-demand' Bindungstechnologie, bei der (nicht-fluoreszente) Dimere nur dann in (fluoreszente) Monomere geteilt werden, wenn die Moleküle an DNA binden. Hierdurch bleibt die Gelmatrix ungefärbt und die Hintergrundsignale niedrig. Roti®-Load DNASTain kann durch UV-Licht und Blaulicht angeregt werden, und ist somit vollständig kompatibel mit gängigen UV-Transilluminatoren, als auch mit moderner Blaulicht-Illumination (siehe auch Rotiphorese®-PROfessional runVIEW, Best.-Nr. 4849.1). Nukleinsäure-gebundenes Roti®-Load DNASTain emittiert nach Anregung eine strahlend grüne Fluoreszenz, die mittels der üblichen Ethidiumbromid- oder SYBR® Green-Fotofilter dokumentiert werden kann.

Anregungsmaxima (DNA-gebunden, schwarze Kurve): ca. 320 nm (UV-Licht) und 470-500 nm (Blaulicht)

Emissionsmaximum (DNA-gebunden, grüne Kurve): 525 nm



Geeignet zur Färbung von dsDNA und dsRNA in Fragmentlängen von:

- Roti®-Load DNASTain 1: > 500 bp
- Roti®-Load DNASTain 2: 100 bis 2000 bp
- Roti®-Load DNASTain 3: < 500 bp

### IV. Sicherheit:

Obwohl es sich bei EvaGreen® um einen interkalierenden Farbstoff handelt, ist durch die geringe Membrangängigkeit des Farbstoffes Roti®-Load DNASTain nicht mutagen, nicht toxisch und gut umweltverträglich. Detaillierte Daten finden Sie online in unserer Technischen Informationsbroschüre bei dem Produkt.

### V. Anwendung:

Roti®-Load DNASTain kann entweder zur DNA-Lösung hinzugefügt werden oder die DNA kann direkt in Roti®-Load DNASTain gelöst werden.

#### Lösen der DNA in 1x Roti®-Load DNASTain:

Verdünnen Sie Roti®-Load DNASTain 1:6. Pipettieren Sie hierfür 170 µl Roti®-Load DNASTain in ein frisches, steriles Reagenzgefäß. Fügen Sie 830 µl doppelt destilliertes, autoklaviertes Wasser hinzu und mischen Sie durch kurzes Vortexen. Sie können diese Lösung (Roti®-Load DNASTain 1x) nun verwenden um präzipitierte DNA zu lösen und direkt auf ein Gel aufzutragen.

### Hinzufügen von Roti®-Load DNASTAIN zu einer DNA-Lösung:

Geben Sie zu 1 Vol. Roti®-Load DNASTAIN 5 Volumina DNA Probe hinzu wie in der Tabelle angegeben. Kurz vortexen oder pipettieren und kurz abzentrifugieren, um die Lösung zu mischen.

Volumen DNA-Lösung		Volumen Roti®-Load DNASTAIN		Gesamt-volumen
5 µl	+	1 µl	=	6 µl
10 µl	+	2 µl	=	12 µl
15 µl	+	3 µl	=	18 µl
20 µl	+	4 µl	=	24 µl
25 µl	+	5 µl	=	30 µl

### OPTIONAL:

Um Laufartefakte zu vermeiden, kann es in manchen Fällen (z.B. bei *EcoRI/Hind III*-verdauter Lambda-DNA) angeraten sein, die Probe vor dem Lauf zu denaturieren. Inkubieren Sie sie 5 min bei 65 °C und kühlen Sie sie auf Eis ab.

### **VI. Lagerung:**

Zur Langzeitlagerung (>3 Monate) sollte Roti®-Load DNASTAIN bei -20 °C gelagert werden. Aktuell verwendeter Puffer kann einige Wochen bei +4 °C gelagert werden. Lichtgeschützt lagern.

### **VII. Qualitätssicherung:**

Alle Komponenten des Puffers sind auf DNase-Freiheit getestet. Die Produktion erfolgt unter sterilen Bedingungen.

### **VIII. Frequently Asked Questions:**

F: Sind Proben von Roti®-Load DNASTAIN erhältlich?

A: Nein, leider nicht. Durch Evaporation im Behältnis sinkt die Qualität von Proben mit einem

Inhalt von weniger als 50 µl sehr rasch. Allerdings sind interessante Testtrabatte verfügbar.

F: Wie sollten die Gele nach dem Färben mit Roti®-Load DNASTAIN visualisiert werden?

A: Die Gele können auf dem UV- oder einem Blaulicht-Transilluminator visualisiert werden.

F: Auf dem UV-Tisch sind die mit Roti®-Load DNASTAIN gefärbten Banden sehr hell, aber auf Fotos ist praktisch keine Bande sichtbar. Woran liegt das?

A: Manche Ethidiumbromid-Fotofilter sind sehr schmalbandig, sodass sie andere Wellenlängen, wie beispielsweise den in diesem Fall erforderlichen Grünbereich, praktisch ausschließen. Verwenden Sie Breitband-Fotofilter oder Filter für SYBR® Green.

F: Ist Roti®-Load DNASTAIN für Färbung nach dem Lauf einsetzbar?

A: Nein, diese Anwendung ist nicht möglich.

F: Wie lange ist Roti®-Load DNASTAIN haltbar?

A: Roti®-Load DNASTAIN ist gekühlt ein Jahr lang haltbar.

F: Wie ist Roti®-Load DNASTAIN zu entsorgen?

A: Befolgen Sie bestehenden abteilungs- oder unternehmensspezifischen Richtlinien bezüglich der Entsorgung von Reagenzien, wie im Sicherheitsdatenblatt zu Roti®-Load DNASTAIN angegeben. Roti®-Load DNASTAIN darf nicht über den Abfluss entsorgt werden.

F: Interkaliert Roti®-Load DNASTAIN zwischen die Basenpaarstapel?

A: Ja, das Molekül interkaliert.

F: Warum ist Roti®-Load DNASTAIN trotzdem nicht-toxisch?

A: Durch die sehr niedrige Membranpermeabilität tritt es nicht in die Zellen ein. Hierdurch sind alle entsprechenden Tests praktisch negativ.

F: Kann ich Roti®-Load DNASTAIN auch zum Färben in PAGE-Gelen verwenden?

A: Ja, es kann auch als Ladepuffer für DNA-Proben in PAGE-Gelen eingesetzt werden.

F: Kann ich mit Roti®-Load DNASTAIN auch supercoiled Plasmide effizient färben?

A: Ja, die Färbefizienz für supercoiled Plasmide ist so gut wie diejenige von Ethidiumbromid.

F: Was ist zu tun, wenn die Banden auf dem Gel zu schwach sind?

A: Erhöhen Sie das zugefügte Volumen Roti®-Load DNASTAIN 2fach.

F: Kann man mit Roti®-Load DNASTAIN auch effizient RNA färben?

A: Der Farbstoff bindet am besten an doppelsträngige Nukleinsäure. RNA mit langen Haarnadel- oder anderen doppelsträngigen Strukturen wird gefärbt, RNA mit langen Einzelstrang-Strukturen wird weniger effizient gefärbt.

F: Können Gele, die mittels Roti®-Load DNASTAIN gefärbt wurden, für Southern-Blotting und Detektionen verwendet werden?

A: Ja, ohne Einschränkung. Während Blotting und Denaturierung diffundiert der Farbstoff von der DNA ab.

EvaGreen® von Biotium, Inc., Hayward, CA, USA

Roti®-Load DNASTAIN ist ausschließlich für Forschungszwecke und nicht für diagnostische Zwecke vorgesehen.

<b>Roti®-Load DNASTAIN 1</b>	5783.1	1 ml
	5783.2	5x1 ml
<b>Roti®-Load DNASTAIN 2</b>	5784.1	1 ml
	5784.2	5x1 ml
<b>Roti®-Load DNASTAIN 3</b>	6472.1	1 ml
	6472.2	5x1 ml



# Instructions for use

## Roti®-Load DNASTain

Ready-to-use, DNase-free, non-toxic  
6x DNA-gel loading buffer with fluorescent  
DNA-dye

### I. Introduction:

Versatile reagent for gel loading and simultaneous staining of double stranded nucleic acid in agarose and polyacrylamide gels. Roti®-Load DNASTain detects up to 0.2 ng per band, and is, therefore, as sensitive as ethidium bromide.

### II. Composition:

Roti®-Load DNASTain is composed as follows:

TRIS/HCl pH 7,5	60 mM
EDTA	60 mM
Glycerol	60 % (w/v)

DNASTain 1: Bromphenolblau, Xylencyanolblau,  
EvaGreen®  
DNASTain 2: Xylencyanolblau, Orange G,  
EvaGreen®  
DNASTain 3: Orange G, EvaGreen®

### Carl Roth GmbH+Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5  
76185 Karlsruhe  
Postfach 100121  
76231 Karlsruhe

Telefon: (+49)721/5606-0  
Telefax: (+49)721/5606-149  
E-Mail: [info@carlroth.de](mailto:info@carlroth.de)  
Internet: [www.carlroth.de](http://www.carlroth.de)

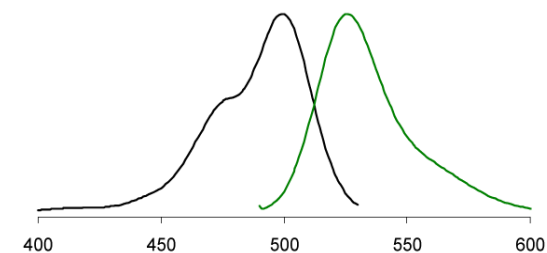
s.t. 04/2017

The density of your DNA-solution is increased by the proportion of glycerol share in Roti®-Load which guarantees even distribution in the gel pocket base. Bromophenol blue, orange G, respectively, and xylene cyanole blue alleviate sample application and can be used as a run marker. By adding Tris and EDTA, DNA stability is increased. EvaGreen® is a non-toxic fluorescence dye that stains nucleic acids during gel run.

### III. Staining:

This innovative reagent contains the dye EvaGreen®, which has been developed specifically for DNA analysis. DNA integrity is not influenced by EvaGreen®; hence, gel eluted DNA may directly be applied to standard down-stream applications, like, e.g., ligations, PCR, transformation, transfection etc. without interfering effects. DNA binding of EvaGreen® is based on the 'release-on-demand' binding technology, where (unstained) dimers are only split into (fluorescent) monomers when binding to DNA. Hence, gel background is very low. Roti®-Load DNASTain can be excited by UV- and blue light, making it fully compatible with standard UV-transilluminators as well as with modern blue-light illumination (see also Rotiphorese®-PROfessional runVIEW, Art. No. 4849.1). When excited, nucleic acid-bound Roti®-Load DNASTain emits a brightly coloured fluorescence that may be documented by standard ethidium bromide- or SYBR® Green foto filters.

Excitation maxima (bound to DNA, black curve):  
ca. 320 nm (UV-light) and 470-500 nm (blue light)  
Emission maximum (bound to DNA, green curve):  
525 nm



Suitable for staining of dsDNA and dsRNA of the following fragment lengths:  
Roti®-Load DNASTain 1: > 500bp  
Roti®-Load DNASTain 2: 100 to 2000 bp  
Roti®-Load DNASTain 3: < 500 bp

### IV. Safe use:

Although it is an intercalating dye, due to the low membrane permeability of EvaGreen®, Roti®-Load DNASTain is non mutagenic, non toxic, and environment friendly. For detailed data see our Technical Info Brochure on EvaGreen® online with the product.

### V. Application:

Roti®-Load DNASTain can either be added to DNA-solution or the DNA can be dissolved directly in Roti®-Load DNASTain.

#### Dissolving DNA in 1 x Roti®-Load DNASTain:

Dilute Roti®-Load DNASTain 1:6 by pipetting 170 µl Roti®-Load DNASTain into a clean, sterile test tube. Add 830 µl bidistilled, autoclaved water and mix by vortexing briefly. This solution (Roti®-Load DNASTain 1x) can now be used to dissolve precipitated DNA and can be applied directly onto the gel.

#### Adding Roti®-Load DNASTain to a DNA-solution:

Add one part of Roti®-Load DNASTain to 5 parts of the DNA sample as shown in the table below.

Vortex gently or pipet a few times, and spin down the tubes to achieve homogeneity.

Volume DNA-solution		Volume Roti®-Load DNASTain		Total volume
5 µl	+	1 µl	=	6 µl
10 µl	+	2 µl	=	12 µl
15 µl	+	3 µl	=	18 µl
20 µl	+	4 µl	=	24 µl
25 µl	+	5 µl	=	30 µl

#### OPTIONAL:

In order to avoid run artefacts, in some cases (e.g. *EcoRI/Hind III*-digested Lambda-DNA) denaturing the sample prior to the run may be recommended. Incubate for 5 mins. at 65 °C and then cool on ice.

#### **VI. Storage:**

For long-term storage, Roti®-Load DNASTain should be stored at -20 °C (> 3 months). Buffer currently in use can be stored for some weeks at +4 °C. Keep protected from light.

#### **VII. Quality assurance:**

All components of the buffer are proved to be DNase-free. The production is carried out under sterile conditions.

#### **VIII. Frequently Asked Questions:**

Q: Are there any samples of Roti®-Load DNASTain?

A: No, sorry. By tube-internal evaporation, the quality of samples of less than 50 µl decreases

rapidly. You may get some interesting test discount, however.

Q: How should I visualise the gels after staining with Roti®-Load DNASTain?

A: Gels can be visualised under UV-light or on a blue-light transilluminator.

Q: On UV-table the Roti®-Load DNASTain stained bands are very bright, but on photos there is virtually no band visible. What is wrong?

A: Some ethidium bromide photo filters are very narrow banded, efficiently excluding other wave lengths like the green range needed here. Use broad-band photo-filters or filters for SYBR® Green.

Q: Can Roti®-Load DNASTain be used for post-run staining or addition to the agarose?

A: No, these applications are not possible.

Q: What is the shelf life of Roti®-Load DNASTain?

A: Roti®-Load DNASTain can be kept for 1 year under cooling.

Q: How should I dispose of Roti®-Load DNASTain?

A: You should follow any existing departmental or company guidance on the disposal of reagents as indicated in the MSDS of Roti®-Load DNASTain. Roti®-Load DNASTain should not be disposed of down the sink.

Q: Does Roti®-Load DNASTain intercalate between base pair stacks?

A: Yes, the molecule intercalates.

Q: Then, why is Roti®-Load DNASTain still non-toxic?

A: Due to the very low membrane permeability, it just doesn't enter the cells. Hence, all respective tests are nearly negative.

Q: May I also use Roti®-Load DNASTain for staining of PAGE gels?

A: Yes, you can use it also for loading of DNA samples into the wells of PAGE gels.

Q: Does Roti®-Load DNASTain also efficiently stain supercoiled plasmids?

A: Yes, staining efficiency of supercoiled plasmids is as good as found for ethidium bromide.

Q: What if the bands on the gel are too faint?

A: Increase the added volume of Roti®-Load DNASTain 2times.

Q: Does Roti®-Load DNASTain also efficiently stain RNA?

A: You need double strands of nucleic acid for binding of the dye. RNA with long hairpins or other double strands is stained; RNA with long single stranded structure may be stained less efficiently.

Q: May gels stained with Roti®-Load DNASTain be used for Southern blotting and detection?

A: Yes, without reservation. During blotting and denaturation the dye simply diffuses from the DNA.

EvaGreen® made by Biotium, Inc., Hayward, CA, USA

Roti®-Load DNASTain is distributed for laboratory research only. Not for diagnostic use.

<b>Roti®-Load DNASTain 1</b>	5783.1	1 ml
	5783.2	5x1 ml
<b>Roti®-Load DNASTain 2</b>	5784.1	1 ml
	5784.2	5x1 ml
<b>Roti®-Load DNASTain 3</b>	6472.1	1 ml
	6472.2	5x1 ml