

Gebrauchsanweisung



ROTI®Load DNASTAIN

SYBR® Green

ready-to-use, 6x konz.

DNA-Gelladepuffer mit Fluoreszenzfarbstoff SYBR® Green I

I. Einleitung

Vielseitiges Reagenz zum Gellauf und zur gleichzeitigen Färbung von doppelsträngiger Nukleinsäure in Agarose- und Polyacrylamidgelen. ROTI®Load DNASTAIN SYBR®* Green detektiert bis zu 0,01 ng pro Bande, und ist damit 20x so sensitiv wie Ethidiumbromid.

II. Zusammensetzung

6x ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green setzt sich wie folgt zusammen:

TRIS/HCl pH 7,5	60 mM
EDTA	60 mM
Glycerin	50 % (w/v)

DNASTAIN 1: Bromphenolblau, Xylencyanol FF, SYBR® Green I

DNASTAIN 2: Xylencyanol FF, Tartrazin, SYBR® Green I

DNASTAIN 3: Orange G, SYBR® Green I

*SYBR® ist ein eingetragenes Warenzeichen der Molecular Probes, Inc., jetzt Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA

Durch den Glycerin-Anteil in ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green wird die Dichte Ihrer DNA-Lösung erhöht und damit gewährleistet, dass sie sich gleichmäßig am Boden der Geltasche verteilt. Bromphenolblau, Xylencyanol FF, Tartrazin und Orange G dienen der Erleichterung des Probenauftrags und als Laufmarkierung. Durch den Zusatz von Tris und EDTA wird die Stabilität der DNA erhöht. SYBR® Green I ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der während des Gellaufs die Nukleinsäure färbt.

III. Mechanismus

Der Fluoreszenzfarbstoff SYBR® Green I wurde speziell für die schonende DNA-Analyse entwickelt. Die DNA-Integrität wird durch SYBR® Green I nicht beeinträchtigt, so dass gelelierte DNA ohne störende Effekte in übliche *down-stream* Applikationen wie Ligationen, PCR, Transformation, Transfektion etc. eingesetzt werden kann.

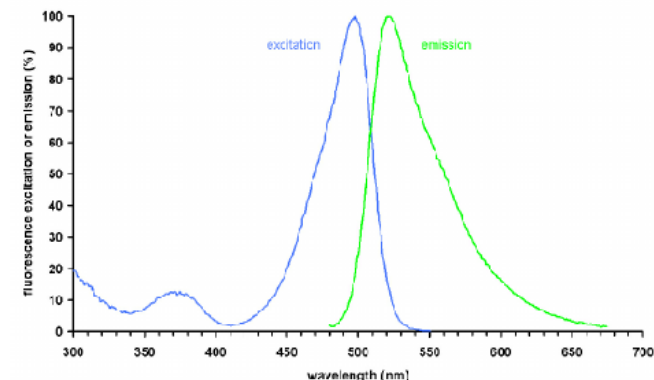
SYBR® Green I bindet an die *minor groove* der DNA und interkaliert in die DNA^{1,2}, ist jedoch weniger mutagen als Ethidiumbromid³. Durch die spezifische Bindung bleiben die Gelmatrix ungefärbt und die Hintergrundsignale niedrig.

SYBR® Green I kann durch UV-Licht und Blaulicht angeregt werden, und ist somit vollständig kompatibel mit gängigen UV-Transilluminatoren und moderner Blaulicht-Illumination (siehe auch ROTIPHORESE®-PROfessional runVIEW, Best.-Nr. 4849.1).

Nukleinsäure-gebundenes SYBR® Green I emittiert nach Anregung eine strahlend grüne Fluoreszenz, die mittels der üblichen Ethidiumbromid- oder SYBR® Green-Fotofilter dokumentiert werden kann.

Anregungsmaxima (DNA-gebunden, blaue Kurve): ca. 254 nm (UV-Licht) und 495 nm (Blaulicht)

Emissionsmaximum (DNA-gebunden, grüne Kurve): 521 nm



Geeignet zur Färbung von dsDNA und dsRNA in Fragmentlängen von:
DNASTAIN 1: > 500 bp
DNASTAIN 2: 100 bis 2000 bp
DNASTAIN 3: < 500 bp

IV. Anwendung

ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green kann entweder zur DNA-Lösung hinzugefügt werden oder die DNA kann direkt darin gelöst werden.

1. Lösen der DNA in 1x ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green

Verdünnen Sie den Gelladepuffer 1:6. Pipettieren Sie hierfür 170 µl Gelladepuffer 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 SYBR® Green 1x) nun verwenden, um präzipitierte DNA zu lösen und direkt auf ein Gel aufzutragen.

2. Hinzufügen von ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green zu einer DNA-Probenlösung

Geben Sie zu 1 Vol. Gelladepuffer 5 Volumina DNA-Probenlösung hinzu wie in der Tabelle angegeben. Kurz abzentrifugieren und dann kurz vortexen oder pipettieren, um die Lösung zu mischen.

Volumen DNA-Lösung		Volumen Gelladepuffer		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 *EcoR I/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.

V. Lagerung

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

VI. Sicherheit

ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green ist als nicht gefährlich und nicht umweltschädlich eingestuft. Trotzdem ist es gute Laborpraxis, bei der Arbeit mit dem Produkt immer Handschuhe zu tragen und die Farbstofflösung nicht über den Abfluss zu entsorgen (s. Sicherheitsdatenblatt).

VII. Qualitätssicherung

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

VIII. Frequently Asked Questions

F: Sind Proben von ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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 Testrabatte verfügbar.

F: Wie werden die Gele nach dem Färben mit ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green visualisiert?

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

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

A: Manche Ethidiumbromid-Fotofilter sind sehr schmalbandig, so dass 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 SYBR® Green für Färbung nach dem Lauf einsetzbar?

A: Nein, diese Anwendung ist nicht möglich.

F: Wie lange ist ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green haltbar?

A: Es ist gekühlt mindestens ein Jahr lang haltbar.

F: Wie ist ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green zu entsorgen?

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

F: Interkaliert ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green zwischen die Basenpaarstapel?

A: Ja, der enthaltene Farbstoff SYBR® Green I interkaliert zwischen die Basenpaarstapel^{1,2}.

F: Ist ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green mutagen?

A: Der enthaltene Farbstoff SYBR® Green I hat das Potential mutagen zu sein, wenn er in hoher Konzentration vorliegt. ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green enthält jedoch nur eine sehr geringe Menge an SYBR® Green I und ist daher unbedenklich und sicher.

F: Ist ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green membrangängig?

A: Der enthaltene Farbstoff SYBR® Green I kann die Zellmembran durchdringen^{4,5}. Diese Eigenschaft ist besonders ausgeprägt in Gegenwart von DMSO, da DMSO die Permeabilität des Gewebes erhöht⁶. Beim ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green handelt es sich jedoch eine wässrige Lösung ohne DMSO, so dass es nicht zu einem Verstärkungseffekt durch DMSO kommt.

F: Kann ich ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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 SYBR® Green auch supercoiled Plasmide 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 SYBR® Green auf bis zur 2fachen Menge.

F: Kann man mit ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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 SYBR® Green gefärbt wurden, für Southern-Blotting und Detektionen verwendet werden?

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

Nur für Laborzwecke. Nicht freigegeben für human- oder veterinärmedizinische Zwecke, für die Anwendung an Mensch oder Tier, oder für die Anwendung in klinischer oder *in vitro*-Diagnostik

Publikationen:

1. Nucleic Acids Research, Zipper *et al.* 32, 12 (2004).
2. J. Fluorescence, Dragan *et al.* 22, 1189 (2012).
3. Mutat Res, Singer *et al.*, 439, 37 (1999)
4. Acta Histochemica, Briggs & Jones, 107, 301 (2005)
5. J. Micro. Methods, Kirchoff & Cypionka, 142, 79 (2017)
6. Molecular Probes, Useful Tips (2003)

ROTI®Load DNASTAIN 1 SYBR® Green

1,8 ml	1CN5.1
5 x 1,8 ml	1CN5.2

ROTI®Load DNASTAIN 2 SYBR® Green

1,8 ml	1CN6.1
5 x 1,8 ml	1CN6.2

ROTI®Load DNASTAIN 3 SYBR® Green

1,8 ml	1CN7.1
5 x 1,8 ml	1CN7.2

Carl Roth GmbH + Co. KG

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

ed 06.2021

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428.
Geschäftsführer: André Houdelet



Instructions for use



ROTI®Load DNASTAIN

SYBR® Green

ready to use, 6x conc.

DNA gel loading buffer with fluorescent dye
SYBR® Green I

I. Introduction

Versatile reagent for gel loading and simultaneous staining of double stranded nucleic acid in agarose and polyacrylamide gels. ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green detects up to 0.01 ng per band, and is, therefore, 20times more sensitive than ethidium bromide.

II. Composition

ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green is composed as follows:

TRIS/HCl pH 7,5	60 mM
EDTA	60 mM
Glycerol	60 % (w/v)
DNASTAIN 1: Bromphenol blue, Xylene cyanol FF, SYBR® Green I	
DNASTAIN 2: Xylene cyanol FF, Tartrazine, SYBR® Green I	
DNASTAIN 3: Orange G, SYBR® Green I	

*SYBR® is a registered trademark of Molecular Probes, Inc., now Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA

The glycerine content in ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green increases the density of your DNA solution, ensuring that it distributes evenly at the bottom of the gel pocket. The tracking dyes bromophenol blue, xylene cyanol FF, tartrazine, orange G are used to facilitate sample application and as run markers. The addition of Tris and EDTA increases the stability of the DNA. SYBR® Green I is a fluorescent dye that stains the nucleic acid during the gel run.

III. Mechanism

The fluorescent dye SYBR® Green I has been developed specifically for DNA analysis. DNA integrity is not influenced by SYBR® Green I; hence, gel eluted DNA may directly be applied to standard down-stream applications, like, e.g., ligations, PCR, transformation, transfection etc. without interfering effects.

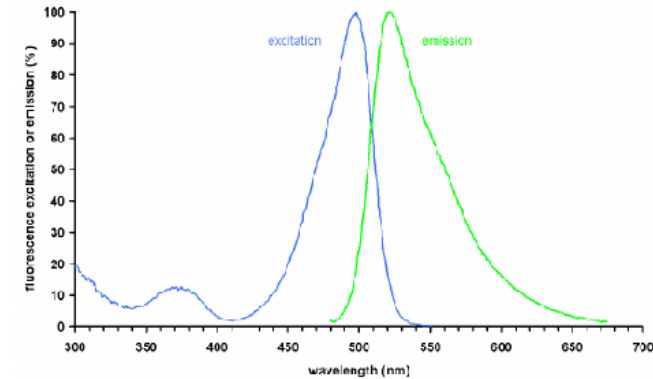
SYBR® Green I binds to the minor groove of the DNA and intercalates into the DNA^{1,2} but is less mutagenic than ethidium bromide³. The specific binding keeps the gel matrix uncoloured and the background signals low.

SYBR® Green I can be excited by UV- and blue light, making it fully compatible with standard UV-transilluminators and modern blue-light illumination. It is also ideally suited for real-time electrophoresis (see also ROTIPHORESE®-PROfessional runVIEW, Art. No. 4849.1).

When excited, nucleic acid-bound SYBR® Green I emits a brightly coloured fluorescence that may be documented by standard ethidium bromide- or SYBR® Green photo filters.

Excitation maxima (bound to DNA, blue curve):
ca. 254 nm (UV-light) and 495 nm (blue light)

Emission maximum (bound to DNA, green curve):
521 nm



Suitable for staining of dsDNA and dsRNA of the following fragment lengths:

DNASTAIN 1: > 500bp

DNASTAIN 2: 100 to 2000 bp

DNASTAIN 3: < 500 bp

IV. Application

ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green can either be added to DNA-solution or the DNA can be dissolved directly in ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green.

1. Dissolving DNA in 1 x ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green

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

2. Adding ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green to a DNA-solution

Add one part of ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green to 5 parts of the DNA sample as shown in the table below. Spin down the tubes and vortex or pipet gently a few times to achieve homogeneity.

Volume DNA-solution		Volume loading buffer	=	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.

V. Storage

For long-term storage, ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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.

VI. Safety

SYBR® Green DNA dye is classified as non-hazardous and not harmful to the environment. Nevertheless, it is good laboratory practice to always wear gloves when working with the product and not to dispose of the dye solution down the sink (s. security data sheet).

VII. Quality Assurance

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

VIII. Frequently Asked Questions

Q: Are there any samples of ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green?

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 SYBR® Green?

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

Q: On UV-table, the ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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 wavelengths as the green range needed here. Use broadband photo-filters or filters for SYBR® Green.

Q: Can ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green be used for post-run staining?

A: No, this application is not possible.

Q: What is the shelf life of ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green?

A: It can be kept for 1 year minimum under cooling.

Q: How should I dispose of ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green?

A: You should follow any existing departmental or company guidance on the disposal of reagents as indicated in the MSDS of ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green. It should not be disposed of down the sink.

Q: Does ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green intercalate between base pair stacks?

A: Yes, the contained dye SYBR® Green I intercalates between base pair stacks^{1,2}.

Q: Is ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green mutagenic?

A: The contained dye SYBR® Green I has the potential to be mutagenic when present in high concentrations. However, ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green contains only a very small amount of SYBR® Green I and is therefore harmless and safe.

Q: Is ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green membrane permeable?

A: The contained dye SYBR® Green I can penetrate the cell membrane^{4,5}. In the presence of DMSO, this property is particularly pronounced, as DMSO increases the permeability of tissue⁶. However, ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green is an aqueous solution without DMSO, so there is no amplification effect from DMSO.

Q: May I also use ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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 SYBR® Green also efficiently stain supercoiled plasmids?

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

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

A: Increase the added volume of ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green up to 2times.

Q: Does ROTI®Load DNASTAIN SYBR® Green 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 SYBR® Green be used for Southern blotting and detection?

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

For research use only. Not approved for human or veterinary use, for application to humans or animals, or for use in clinical or in vitro diagnostics.

Literature:

1. Nucleic Acids Research, Zipper *et al.* 32, 12 (2004).
2. J. Fluorescence, Dragan *et al.* 22, 1189 (2012).
3. Mutat Res, Singer *et al.*, 439, 37 (1999)
4. Acta Histochemica, Briggs & Jones, 107, 301 (2005)
5. J. Micro. Methods, Kirchhoff & Cypionka, 142, 79 (2017)
6. Molecular Probes, Useful Tips (2003)

ROTI®Load DNastain 1 SYBR® Green

1.8 ml	1CN5.1
5 x 1.8 ml	1CN5.2

ROTI®Load DNastain 2 SYBR® Green

1.8 ml	1CN6.1
5 x 1.8 ml	1CN6.2

ROTI®Load DNastain 3 SYBR® Green

1.8 ml	1CN7.1
5 x 1.8 ml	1CN7.2

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe

P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe

Phone: +49 (0) 721/ 5606-0

Fax: +49 (0) 721/ 5606-149

info@carlroth.com • www.carlroth.com ed 06.2021

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

