

Gebrauchsanweisung



50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green

ready-to-use, vorgefärbt mit SYBR® Green I

I. Einleitung

Die DNA-Leiter wird zur Größenbestimmung von DNA-Fragmenten eingesetzt, die mit SYBR® Green I vorgefärbt wurden, z.B. mit dem Gelladepuffer ROTI®Load DNastain 3 (Best.-Nr. 1CN7). Sie lässt sich mit UV- und Blaulicht anregen und ist auch bestens für die *real-time* Elektrophorese geeignet (siehe ROTIPHORESE®-PROfessional runVIEW, Best.-Nr. 4849).

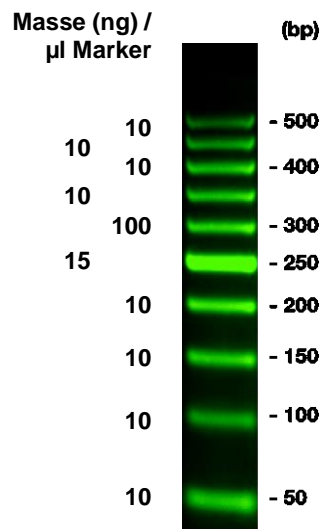


Abbildung: 5 µl 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green auf 3,0 % Agarose

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

II. Zusammensetzung

Regelmäßige DNA-Leiter bestehend aus 10 Fragmenten mit 50 bis 500 bp, vorgefärbt mit SYBR® Green I. Das in seiner Masse verstärkte 250 bp Fragment dient zur Orientierung.

Die Herstellung erfolgte durch PCR-Amplifikation auf Basis von Lambdaphagen-Template-DNA. Nach Amplifikation wurde die DNA gereinigt, spektroskopisch vermessen und in den angegebenen Mengen in den Marker eingesetzt.

Der Marker ist gelöst in einfach konzentriertem Gelladepuffer (Tris-HCl, pH 7,5, 10 mM; EDTA 10 mM; Glycerin 10 %, w/v; SYBR® Green I; Orange G) und kann direkt eingesetzt werden. Die Konzentration beträgt 105 ng DNA/µl Markerlösung.

III. Mechanismus

Der Fluoreszenzfarbstoff SYBR® Green I bindet an die *minor groove* von dsDNA und interkaliert in die DNA^{1,2}, ist jedoch weniger mutagen als Ethidiumbromid³ und 20x so sensitiv. Durch die spezifische Bindung bleiben die Gelmatrix ungefärbt und die Hintergrundsignale niedrig. Die DNA-Integrität wird durch SYBR® Green I nicht beeinträchtigt, so dass übliche *down-stream* Applikationen durchgeführt werden können.

IV. Anwendung

Die DNA- Leiter kann direkt auf ungefärbte Agarosegele aufgetragen werden. Die übliche Beladung für MINI- oder MIDI-Gele beträgt 5 µl (500 ng) pro Spur.

Der Farbstoff kann durch UV-Licht und Blaulicht angeregt werden. Wir empfehlen Ethidiumbromid-Breitbandfilter oder SYBR® Green-Filter.

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

Emissionsmaximum (DNA-gebunden): 521 nm

Die 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green ist sehr gut kombinierbar mit der 100 bp-DNA-Leiter SYBR® Green (Best.-Nr. 1CN9). Man erhält eine vielfältig einsetzbare Leiter für den kleinen bis mittleren Fragmentbereich von 50 bp bis 1000 bp.

Fragmentgrößen** (in bp)	DNA-Massen (ng/µl Markerlösung)
500	10
450	10
400	10
350	10
300	10
250	15
200	10
150	10
100	10
50	10

**Vor dem Hintergrund der Sequenziergenauigkeit können wir bei der Angabe der Fragmentgrößen eine Fehlerrate von <1 % garantieren.

V. Lagerung

Die optimale Lagerungstemperatur liegt bei -20 °C. Wiederholtes (>10-mal) Auftauen und Einfrieren schadet dem Marker und ist zu vermeiden. Gegebenenfalls den Marker in Portionen aliquotieren. Aktuell verwendete Marker-Aliquots können kurzzeitig (einige Wochen) bei +4 °C gelagert werden. *Vor Licht geschützt lagern!*

VI. Sicherheit

Die 50 bp-DNA-Leiter 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.

VII. Qualitätssicherung

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

VIII. Frequently Asked Questions

F: Wie werden die Banden der 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green nach dem Gellauf visualisiert?

A: Sie können auf einem UV- oder Blaulicht-Transilluminator sichtbar gemacht werden.

F: Auf dem UV-Tisch sind die 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: Wie lange ist die 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green haltbar?

A: Sie ist gekühlt mindestens ein Jahr lang haltbar.

F: Wie ist die 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green zu entsorgen?

A: Befolgen Sie bestehenden abteilungs- oder unternehmensspezifischen Richtlinien bzgl. der Entsorgung von Reagenzien, wie im Sicherheitsdatenblatt zur 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green angegeben. Die Markerlösung darf nicht über den Abfluss entsorgt werden.

Fragen zum in der Leiter enthaltenen Farbstoff SYBR® Green I:

F: Interkaliert SYBR® I zwischen die Basenpaarstapel?

A: Ja, der Farbstoff interkaliert zwischen die Basenpaarstapel^{1,2}.

F: Ist SYBR® Green I mutagen?

A: SYBR® Green I hat das Potential mutagen zu sein, wenn es in hoher Konzentration vorliegt. Die 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green enthält jedoch nur eine sehr geringe Menge an SYBR® Green I und ist daher unbedenklich und sicher.

F: Ist SYBR® Green I membrangängig?

A: 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. Die 50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green ist jedoch in einem wässrigen Ladepuffer gelöst ohne Zusatz von DMSO, so dass es nicht zu einem Verstärkungseffekt durch DMSO kommt.

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)

**50 bp-DNA-Leiter SYBR® Green
1CN8.1**

500 µl

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



50 bp DNA Ladder SYBR® Green

ready-to-use, prestained with SYBR® Green I

I. Introduction

The DNA ladder is used for size determination of DNA fragments pre-stained with SYBR® * Green I, e.g. with the gel loading buffer ROTI®Load DNastain 3 (Art. No. 1CN7). It can be excited with UV and blue light and is ideally suited for real-time electrophoresis (see ROTIPHORESE®-PROfessional runVIEW, Art. No. 4849).

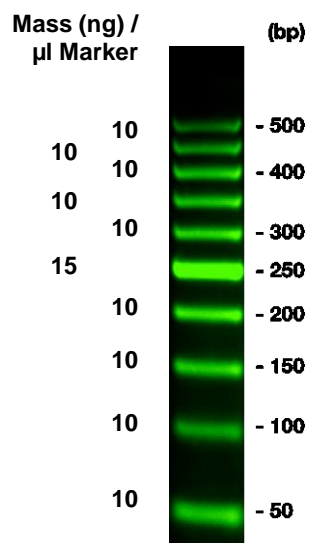


Figure:
5 μl of 50 bp DNA Ladder SYBR® Green on 3.0 % agarose

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

II. Composition

Regular DNA ladder consisting of 10 fragments with 50 to 500 bp, prestained with SYBR®Green I. The 250 bp fragment has been enhanced for easy analysis of the gel.

The marker was generated by PCR amplification based on Lambda phage as template DNA. Following PCR, the DNA was purified, spectroscopically measured and used for marker mixture in the amounts given below. The marker is solubilised in 1x concentrated sample buffer (Tris HCl, pH 7.5, 10 mM; EDTA 10 mM; glycerol 10 %; SYBR® Green I; orange G) and may be applied directly to the gel. The concentration is 105 ng DNA/μl marker solution.

III. Mechanism

The fluorescent dye SYBR® Green I binds to the minor groove of dsDNA and intercalates into DNA^{1,2}, but is less mutagenic than ethidium bromide³ and 20x as sensitive. The specific binding keeps the gel matrix uncoloured and the background signals low. DNA integrity is not influenced by SYBR® Green I; hence, gel eluted DNA may directly be applied to standard down-stream applications.

IV. Application

The DNA ladder is optimised for direct loading on unstained agarose gels. The standard loading of MINI or MIDI gels is 5 μl (500 ng) per lane.

The dye can be excited by UV- and blue light. We recommend use of broadband ethidium bromide or SYBR® Green photo filters.

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

Emission maximum (bound to DNA): 521 nm

The 50 bp DNA ladder SYBR® Green is highly compatible with the 100 bp DNA ladder SYBR® Green (Art. No. 1CN9). The result is a versatile ladder for the small to medium fragment range from 50 bp to 1000 bp.

Fragment sizes** (in bp)	DNA mass (ng/μl marker solution)
500	10
450	10
400	10
350	10
300	10
250	15
200	10
150	10
100	10
50	10

**Taking the sequencing accuracy as a basis, we can guarantee an error rate of <1 % when indicating fragment sizes.

V. Storage

Optimal storage temperature is -20 °C. Repeated (>10 times) thawing and freezing will damage the marker and should be avoided. If necessary aliquote the marker in portions. Short term storage (few weeks) may be done at +4 °C. *Store in the dark!*

VI. Safety

The 50 bp ladder SYBR® Green 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.

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: How can I visualise the bands of the 50 bp DNA ladder SYBR® Green after gel run?

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

Q: On UV-table, the 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: What is the shelf life of the 50 bp DNA ladder SYBR® Green?

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

Q: How should I dispose of the 50 bp DNA ladder SYBR® Green?

A: You should follow any existing departmental or company guidance on the disposal of reagents as indicated in the MSDS of the 50 bp DNA ladder SYBR® Green. It should not be disposed of down the sink.

Questions about the fluorescent dye SYBR® Green I contained in the ladder:

Q: Does SYBR® Green I intercalate between base pair stacks?

A: Yes, the dye intercalates between base pair stacks^{1,2}.

Q: Is SYBR® Green I mutagenic?

A: SYBR® Green I has the potential to be mutagenic when present in high concentrations. However, the 50 bp DNA ladder SYBR® Green contains only a very small amount of SYBR® Green I and is therefore harmless and safe.

Q: Is SYBR® Green I membrane permeable?

A: 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, the 50 bp DNA ladder SYBR® Green is dissolved in an aqueous loading buffer without addition of DMSO, so there is no amplification effect from DMSO.

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)

**50 bp DNA Ladder SYBR® Green
1CN8.1**

500 µl

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.