

Gebrauchsanweisung



ROTI®Load DNA-small (mit Glycerin)

6x Gelladepuffer für die DNA-Elektrophorese kleiner Fragmente

I. Einleitung:

ROTI®Load DNA-small ist ein 6fach konzentrierter, spezieller DNA-Gelladepuffer zur DNA-Elektrophorese kleiner Fragmente. Durch das Fehlen von Bromphenolblau wird das Überdecken von DNA-Banden im kleinen Fragmentbereich vermieden und auch in hochkonzentrierten Agarosegelen eine saubere Darstellung der DNA ermöglicht. Jede Charge wird auf Funktionalität in der Elektrophorese und auf DNase-Freiheit getestet um Ihnen höchstmögliche Sicherheit und reproduzierbare Ergebnisse garantieren zu können.

II. Zusammensetzung:

6 x ROTI®Load DNA-small (mit Glycerin) setzt sich wie folgt zusammen:

TRIS/HCl pH 7,5	60 mM
Na-acetat	30 mM
EDTA	12 mM
Glycerin	60 % (w/v)
Xylencyanolblau	0,12 % (w/v)

Durch den Glycerin-Anteil in ROTI®Load wird die Dichte Ihrer DNA-Lösung erhöht und damit gewährleistet, dass sie sich gleichmäßig am Boden der Geltasche verteilt. Xylencyanol dient

der Erleichterung des Probenauftrags und als Laufmarkierung. Das Fehlen von Bromphenolblau vermeidet das Überdecken sehr kleiner Fragmente. Durch den Zusatz von Tris und EDTA wird die Stabilität der DNA erhöht.

III. Anwendung:

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

Lösen der DNA in 1x ROTI®Load DNA-small:

Verdünnen Sie ROTI®Load DNA-small 1:6. Pipettieren Sie hierfür 170 µl ROTI®Load DNA-small 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 DNA-small 1x) nun verwenden um präzipitierte DNA zu lösen und direkt auf ein Gel aufzutragen.

Hinzufügen von ROTI®Load zu einer DNA-Lösung:

Volumen DNA-Lösung		Volumen ROTI®Load		Gesamtvol. Probe
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

Fügen Sie beispielsweise zu einer DNA-Lösung mit einem Volumen von 5 µl, 1 µl ROTI®Load DNA-small hinzu. Mischen Sie die Probe, indem Sie dreimal vorsichtig auf- und abpipettieren.

OPTIONAL:

Unabhängig davon welche Methode Sie verwenden, empfehlen wir Ihnen die Probe 5 min

bei 65°C zu denaturieren und anschließend auf Eis abzukühlen, da ansonsten Laufartefakte entstehen können (z.B. bei *EcoRI/HindIII*-gespaltener Lambda-DNA).

IV. Lagerung:

Zur Langzeitlagerung (>3 Monate) sollte der Puffer bei -20 °C gelagert werden. Aktuell verwendeter Puffer kann einige Wochen bei 4 °C (oder Raumtemperatur) gelagert werden.

V. Qualitätssicherung:

Jede Charge ROTI®Load DNA-small wird auf DNase-Freiheit und Funktionalität in der Elektrophorese getestet. Hierzu wird 1 µg linearisierte Plasmid-DNA 48h bei 37 °C in 1x DNA-Puffer inkubiert und die Integrität der DNA mit einer frischen Probe elektrophoretisch verglichen.

ROTI®Load DNA-small

(mit Glycerin) HP03.1 5x1,8 ml

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

ip 07/2021

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 DNA small

(with glycerol)

6 x gel loading buffer for DNA-electrophoresis of small fragments

I. Introduction:

ROTI®Load DNA small is a special 6x concentrated gel loading buffer, optimised for DNA electrophoresis of small fragments. It prevents DNA bands of small fragments from being concealed by bromophenol blue, even in high concentrated agarose gels. Each batch is tested for functionality in electrophoresis and for being DNase-free in order to guarantee the highest safety and reproducible results.

II. Composition:

ROTI®Load DNA small (with glycerol) is composed as follows:

TRIS/HCl pH 7,5	60 mM
Na-acetate	30 mM
EDTA	12 mM
Glycerol	60 % (w/v)
Xylene cyanol blue	0.12 % (w/v)

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. Xylene cyanol blue alleviates sample application and can be used as a run marker. Bromophenol blue is omitted in order to enable

clear depiction of very small DNA fragments. By adding Tris and EDTA, DNA stability is increased.

III. Application:

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

Dissolving DNA in 1 x ROTI®Load DNA small:

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

Adding ROTI®Load to a DNA-solution:

Volume DNA-solution		Volume ROTI®Load		Total volume Sample
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

For example, add 1 µl ROTI®Load DNA small to a DNA solution with a volume of 5 µl. Mix the sample by carefully pipetting up and down three times.

OPTIONAL:

Irrespective of which method you use, we recommend denaturing the sample for 5 mins at 65 °C and then cooling on ice, otherwise run artefacts may develop (e.g. *EcoRI/HindIII*-separated Lambda-DNA).

IV. Storage:

Buffer should be stored at –20 °C for long-term storage (> 3 months). Buffer currently in use can be stored for some weeks at 4 °C (or room temperature).

V. Quality assurance:

Every ROTI®Load DNA small batch is tested for being DNase-free and for functionality in electrophoresis.

For this purpose, 1 µg linearized plasmid-DNA is incubated for 48 h at 37 °C in 1x DNA-buffer and the integrity of the DNA electrophoretically compared with a fresh sample.

ROTI®Load DNA small

(with glycerol)

HP03.1

5x1.8 ml

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 ip 07/2021

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.