

DNA marker 155-970 coloured

(katalogové číslo C109, C111)

Popis

Odhad velikostí DNA fragmentů generovaných v PCR (PCR fragmentů) je obvykle založen na srovnání elektroforetické pohyblivosti těchto fragmentů s fragmenty DNA o známé velikosti (DNA markerů). PCR fragmenty jsou obvykle v rozmezí 200 - 900 párů bazí. Tuto oblast pokrývají fragmenty DNA, které jsou součástí DNA markeru 155-970 coloured. Tyto fragmenty vznikly působením restričního enzymu na referenční plasmid. Tento marker navíc obsahuje tři barvičky [bromofenolovou modř, xylen cyanol a inertní barvivo (Purple)]. Zvýšená hustota tohoto markeru umožňuje jeho vkládání přímo do jamek gelu (bez nutnosti jeho smíchání s vkladacím pufrům). Tento marker je zvláště vhodný v kombinaci s PCR produkty generovaných pomocí Taq-Purple DNA polymerázy (kat. č. T107-T109).

Technické údaje

Koncentrace

- 1 µg DNA/12 µl pufru (5 mM Tris-HCl, 5 mM MgCl₂, 0,5 mM dithiothreitol, 50 mM NaCl a 50 mM EDTA).

Kontrola kvality

- přítomnost odpovídajících fragmentů je kontrolována elektroforézou v agarózovém gelu. Pouze fragmenty uvedené v obr. jsou pozorovány. Poměr A_{260}/A_{280} je v rozmezí 1,8 - 2,0.

Balení

- 1 zkumavka, obsahující 25 µg restričních fragmentů ve 300 µl pufru. Jedno balení umožní přípravu 30 analýz.

Skladování

- při teplotě $-20 \pm 5^\circ\text{C}$. Materiál snáší opakované rozmrazování.

Protokol

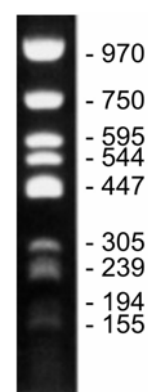
Doporučený protokol pro určování velikosti PCR produktů

10 µl DNA markeru 155-970 col. se nanáší přímo do jamek v gelu připraveném z 1,2% PCR agarózy (Kat. č. P 045)

Do vedlejších jamek nanášet vzorky připravené smícháním:

- 10 µl produktu PCR,
- 2 µl PCR vkladacího pufru.

Provést elektroforézu a odhadnout velikost PCR produktu na základě srovnání jeho pohyblivosti s DNA markerem.



Obr. 1. Elektroforetická separace DNA markeru 155-970 col.

10 µl DNA markeru bylo separováno v 1,2% agarózovém gelu, který obsahoval ethidium bromid (1 µg/ml) a 1x TBE pufr. Čísla vyjadřují počty párů bazí v odpovídajících DNA fragmentech.

Kat. č.	Název výrobku a specifikace	Množství
C 109	DNA marker 155-970 col.	25 µg/300 µl
C 111	DNA marker 155-970 col.	5x 25 µg/300 µl

